

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**  
**DEPARTAMENTO DE ESTOMATOLOGÍA III**



**TESIS DOCTORAL**

**Hallazgos clínicos, epidemiológicos, histopatológicos e  
identificación y tipificación del virus papiloma humano en la  
Hiperplasia Epitelial Focal: una serie de 47 casos**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

**Susy Cok Meza**

DIRECTOR

**Antonio Bascones Martínez**

Madrid, 2018

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**  
**Departamento de Estomatología III**



**TESIS DOCTORAL**

**Hallazgos clínicos, epidemiológicos, histopatológicos e  
identificación y tipificación del virus papiloma humano  
en la Hiperplasia Epitelial Focal: una serie de 47 casos.**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR**

**PRESENTADA POR**

**Susy Cok Meza**

**DIRECTOR**

**Antonio Bascones Martínez**

Madrid, 2017

Departamento de Estomatología III

Facultad de Odontología

Universidad Complutense de Madrid, España



**HALLAZGOS CLÍNICOS, EPIDEMIOLÓGICOS,  
HISTOPATOLÓGICOS E IDENTIFICACIÓN Y TIPIFICACIÓN  
DEL VIRUS PAPILOMA HUMANO EN LA HIPERPLASIA  
EPITELIAL FOCAL: UNA SERIE DE 47 CASOS.**

Susy Cok Meza

Tesis Doctoral

Madrid, 2017

Dirigida por el Profesor Doctor Antonio Bascones Martínez

*A Jaime, Rita, Camila & Matthias,  
sin ustedes no hubiera sido posible.*

## AGRADECIMIENTOS

Quisiera comenzar agradeciendo de manera especial y sincera a mi director de tesis, el Profesor Antonio Bascones; por haber confiado, apoyado, corregido y orientado este trabajo durante todos estos años. Usted ha sobrepasado con mucho, todas las expectativas, que como alumna, una puede esperar de su mentor. Su apoyo incondicional y su capacidad para guiar este estudio, ha sido un aporte invaluable, y no sólo en el desarrollo de esta tesis sino también en mi formación como persona y profesional. Le agradezco también por haberme facilitado siempre los medios suficientes y sobre todo por su paciencia infinita. Muchas gracias Profesor.

Al Dr. Wilson Delgado, por ser un pilar importante en el desarrollo de este trabajo. Por haberme guiado y animado a trabajar en un tema tan poco estudiado como este. Por haberme facilitado las instalaciones del laboratorio y sobre todo, por brindarme la oportunidad de trabajar con una muestra de pacientes tan representativa como esta.

A Sáenz Hernández, por el apoyo incondicional que me brindó durante mi estancia en el Laboratorio de la Clínica Universitaria Cayetano Heredia (Lima- Perú).

A la Dra. Maritza Calderón y a todo su equipo, quienes me enseñaron y guiaron en todo el proceso de la fase de RCP. Por todo su tiempo, paciencia y dedicación, un agradecimiento muy grande.

A mi hermana Camila, mi ejemplo de responsabilidad y constancia. Todavía sigo aprendiendo de ella.

A mi madre, porque a pesar de quererme siempre a su lado, me ha permitido elegir y me ha brindado su apoyo constante para alcanzar mis sueños. Por transmitirme la ambición de seguir creciendo profesionalmente, pero sobre todo, por mostrarme lo que es ser una persona luchadora y de lo privilegiados que somos cuando tenemos en vida a los seres que más queremos.

A mi padre, Dr. Jaime Cok, por despertar mi curiosidad e interés por la medicina oral. Por las horas de dedicación y explicación desde que llevaba esta asignatura durante mi carrera. Por enseñarme a mirar a través de un microscopio desde que tengo uso de razón. Y por enseñarme que hay detalles en cosas tan pequeñas como las células, que muchas veces pueden ser tan importantes, como la vida misma.

Finalmente, pero no menos importante: gracias a Matthias, mi compañero de vida y amor incondicional. Por ser la persona más optimista y positiva que conozco. Por creer en nosotros y estar a mi lado a pesar de todo. Por impulsarme siempre a seguir adelante, y adoptar mis sueños y quererlos con tanta fuerza, como si fuesen propios.

HALLAZGOS CLÍNICOS, EPIDEMIOLOGICOS,  
HISTOPATOLÓGICOS E IDENTIFICACIÓN Y TIPIFICACIÓN  
DEL VIRUS PAPILOMA HUMANO EN LA HIPERPLASIA  
EPITELIAL FOCAL: UNA SERIE DE 47 CASOS.

# ÍNDICE

<b>1. SIGLAS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS</b>	<b>08</b>
<b>2. INTRODUCCIÓN</b>	<b>11</b>
2.1. Generalidades sobre la Hiperplasia Epitelial Focal	12
2.2. Etiología	13
2.3. Epidemiología e Incidencias	15
2.4. Características Clínicas	19
2.5. Características Microscópicas	20
2.6. Diagnóstico	22
2.6.1. Reacción en cadena de Polimerasa	23
2.7. Pronóstico y Tratamiento	24
<b>3. JUSTIFICACIÓN</b>	<b>26</b>
<b>4. HIPÓTESIS DE TRABAJO</b>	<b>28</b>
<b>5. OBJETIVOS</b>	<b>30</b>
<b>6. MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>32</b>
6.1. Diseño de estudio	33
6.2. Población de estudio	33
6.2.1. Criterios de inclusión	33
6.2.2. Criterios de exclusión	34
6.3. Recogida de datos	34
6.4. Procesado de las muestras	35
6.4.1. Técnica de inclusión en parafina	35
6.4.2. Técnica de coloración	36
6.5. Confirmación del diagnóstico de HEF	37
6.6. Análisis de las características histopatológicas	37



6.7. Extracción de ADN	39
6.8. Reacción en cadena de Polimerasa	41
6.8.1. Cebadores o <i>primers</i> utilizados	42
6.8.2. Procedimiento	43
6.9. Análisis estadístico	44
<b>7. RESULTADOS</b>	<b>46</b>
7.1. Características Demográficas	47
7.2. Características Clínicas	49
7.3. Características Histopatológicas	50
7.4. Identificación y tipificación del VPH	58
7.5. Relación entre localización y tipo de VPH	59
7.6. Árbol de Clasificación	61
<b>8. DISCUSIÓN</b>	<b>62</b>
<b>9. CONCLUSIONES</b>	<b>68</b>
<b>10. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>70</b>
<b>11. ANEXOS</b>	<b>81</b>
<b>12. RESUMEN EN INGLÉS</b>	<b>94</b>
12.1. Title of the thesis	95
12.2. Introduction	95
12.3. Hypothesis	96
12.4. Objectives	96
12.5. Material and Methods	97
12.6. Results	99
12.7. Conclusions	99
<b>13. RESUMEN EN ESPAÑOL</b>	<b>100</b>

# **1.- SIGLAS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS**

<b>HEF</b>	Hiperplasia Epitelial Focal
<b>VPH</b>	Virus Papiloma Humano
<b>ADN</b>	ácido desoxirribonucleico
<b>HLA</b>	antígeno leucocitario humano
<b><math>\alpha</math>-2<math>\beta</math></b>	alfa dos beta
<b>cols</b>	colaboradores
<b>HE</b>	hematoxilina- eosina
<b>C°</b>	grado Celsius
<b>INNO-LiPA</b>	Innogenetics- Line Probe Assay
<b><math>\beta</math>- globina</b>	beta-globina
<b>%</b>	por ciento
<b><math>\mu</math>M</b>	micrómetros
<b><math>\mu</math>L</b>	microlitros
<b>ml</b>	mililitros
<b>mg</b>	miligramos
<b>ng</b>	nanogramos
<b>mA</b>	megaampere
<b>EtOH</b>	etanol
<b>CO<sub>2</sub></b>	dióxido de carbono
<b>H<sub>2</sub>O</b>	agua
<b>HCl</b>	cloruro de hidrógeno

<b>KCl</b>	cloruro de potasio
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	cloruro de magnesio
<b>K</b>	potasio
<b>Tris</b>	tris-hidroximetil-aminometano
<b>pH</b>	potencial hidrógeno
<b>EDTA</b>	ácido etilendiaminotetraacético
<b>dATP</b>	trifosfato de desoxiadenosina
<b>dGTP</b>	desoxiguanosin trifosfato
<b>dCTP</b>	desoxicitidina trifosfato
<b>dUTP</b>	desoxinucleótido trifosfato
<b>DE</b>	desviación estándar
<b>ES</b>	estadísticamente significativo
<b>DES</b>	diferencias estadísticamente significativas
<b>Nº</b>	número
<b>°</b>	grados
<b>≥</b>	mayor igual que
<b>≤</b>	menor igual que
<b>&gt;</b>	mayor que
<b>&lt;</b>	menor que
<b>=</b>	igual a

## **2.- INTRODUCCIÓN**

## **2.1 Generalidades sobre la Hiperplasia Epitelial Focal**

La hiperplasia Epitelial Focal es una enfermedad poco común de la mucosa de la cavidad oral que se encuentra asociada al Virus Papiloma Humano (1-5). Aparece principalmente en grupos aislados de indios nativos de América del Norte, Centroamérica, Sudamérica y otros grupos muy reducidos de Europa y África (6-15).

A pesar que otros autores la describieron con anterioridad, es conocida también como Enfermedad de Heck, este epónimo deriva del Dr. Heck quien junto a sus colaboradores en 1965 realizó la primera publicación de casos. En este estudio incluyeron 19 casos, de los cuales 15 fueron niños de Nuevo México, uno proveniente de Alaska, uno de Brasil y dos de un lugar no identificado en el suroeste de Los Estados Unidos (16). En el mismo año Witkop y colaboradores publicaron once casos con el mismo diagnóstico en indios Xavante de Brasil, una población Ladina en El Salvador y otra en Quiche-Maya de Guatemala (13). Posteriormente se fueron reportando casos únicos de Polinesia (17), Puerto Rico (18) y de una mujer adulta de origen caucásico (19); además de pequeños grupos en países latinoamericanos como Bolivia, Paraguay, Perú, Colombia y México (12, 20-22) e incluso se hicieron también algunas publicaciones de casos en primates y en un conejo, los cuales presentaban características macroscópicas y microscópicas similares a las de los humanos en presencia de esta enfermedad (23-27).

Independientemente del lugar de origen, el número de casos encontrados en países desarrollados, los cuales suelen tener menor incidencia de la enfermedad, ha ido aumentando en los últimos años (28, 29).

## 2.2. Etiología

En la etiología de la enfermedad se incluye principalmente la presencia del Virus Papiloma Humano (VPH). El VPH pertenece a un grupo diverso de virus ADN de la familia de los Papillomaviridae y como todos los virus de esta familia, establecen infecciones en el epitelio estratificado y mucosa de la piel, e inducen la proliferación celular en humanos (30, 31).

Los primeros a demostrar partículas de VPH en esta enfermedad fueron Praetorius-Clausen y Willis en 1971, quienes usaron un microscopio electrónico en cinco muestras de pacientes provenientes de Groelandia (32). Un año más tarde, Hanks y Fishman encontraron los mismos hallazgos en un caso de un niño de 5 años de edad proveniente de Cochabamba- Bolivia (33). Posteriormente, algunos estudios como los de Kuffer y Perol en 1976, en el cual se evalúa el primer caso en Francia (34) y el de Kulhwein y cols en 1981; confirmaron esta teoría (35).

Hasta el día de hoy, se han identificado alrededor de 200 tipos diferentes de VPH, siendo la mayoría totalmente asintomáticos (30). En el año 1983 Pfiser y cols. publicaron la presencia y relación de la enfermedad con el tipo VPH-13 evaluando una muestra tomada de un paciente de origen turco (36). Posteriormente, Beaudenon y cols. evaluaron diez pacientes de distinta procedencia confirmando la teoría de Pfiser y encontrando además la relación del tipo VPH-32 con la enfermedad (37).

En los últimos años, con el avance de la ciencia, estudios inmunohistoquímicos y de hibridación “in situ” han demostrado que la HEF se encuentra muy relacionada con los

tipos PVH-13 y PVH-32, sin embargo, algunos reportes ocasionales han demostrado también la presencia de PVH-1, PVH-6, PVH-11, PVH-16 y PVH-40 (38-42).

Otro factor etiológico muy mencionado relacionado a la Hiperplasia Epitelial Focal es la predisposición genética (13, 16). En el año 1969, la presencia de la enfermedad en una familia de origen colombiano fue descrita y destacada por primera vez por Gómez y cols (21). Unos años más tarde, en 1993, Premoli-De-Percoco publicó casos de una familia venezolana, en donde miembros de seis generaciones fueron diagnosticados con

HEF, se concluyó que existe un componente genético de por medio y que la posible razón de la agregación familiar se basaba en que todos los ancestros nacieron en un pequeño pueblo con un componente genético indo-americano muy fuerte (43). En la última publicación de García-Corona y cols en el año 2004, evalúan el componente genético mediante el estudio de la asociación de los alelos HLA-DR4 (DRB1\*0404) con la infección del VPH; los resultados obtenidos se sumaron también al sustento de esta teoría (4).

Factores ambientales y deficiencia de nutrición también han sido mencionados por algunos autores (17). Según Ledesma- Montes y cols, los bajos recursos económicos y falta de higiene pueden ser también causas (44). En el año 2014, Park y cols publicaron un caso asociado a la colocación de una prótesis fija en un paciente de origen chino y con un resultado negativo al VPH (45).

La inmunosupresión es otro aspecto que ha sido evaluado, Feller y cols presentaron el caso de un niño VIH seropositivo que recibe terapia antirretroviral altamente activa, a



quien se le diagnóstica además HEF y se trata exitosamente con láser de Diodo. Debido a su estado, los autores afirmaron la posibilidad de que la enfermedad sea atribuida al tratamiento que recibe contra el VIH (46). Por otro lado, Marvan y cols también presentaron un reporte de caso de un paciente VIH seropositivo con diagnóstico de HEF y además una revisión del tema, sin embargo, los autores concluyeron que la relación entre el estado inmune y la infección por el VPH todavía debe ser estudiada (47). Finalmente, en el 2014, Patterson y cols publicaron un caso de un paciente que recibía tratamiento de quimioterapia y presentaron la posible relación entre la inmunosupresión del mismo y la presencia de la enfermedad (48).

### **2.3. Epidemiología e Incidencia**

Existen pocos estudios en donde evalúen la epidemiología e incidencia de la enfermedad y esto puede ser atribuido a la rareza de la misma. De acuerdo a la distribución geográfica; América Central, América del Sur y México son los lugares donde se han encontrado la mayor cantidad de reportes de casos (3, 12, 13, 20, 41, 49). En relación a la raza, la enfermedad disminuye en asiáticos y es aún más rara en caucásicos y de raza negra (17, 19, 50, 51).

De acuerdo a la edad, diversos reportes de casos aportan que la predilección de la enfermedad va dirigida a la población pediátrica y que la incidencia en cuanto al sexo se encuentra relacionada con mayor predominio en el sexo femenino (17, 18, 49, 52, 53). Así además lo afirma Archard y cols quienes encuentran una relación 4:1 a favor del sexo femenino (16).

La última revisión más resaltante es la de Román Carlos y cols en 1994, quienes toman una muestra de 110 pacientes con diagnóstico de HEF identificados en un periodo de 3 años en la ciudad de Guatemala y en áreas rurales de la misma (41).

La distribución de acuerdo al sexo, como es visto en la Tabla I, presenta una predilección 2.2:1 por el sexo femenino. Hallándose un 69% en este grupo (41).

Tabla I. Distribución de acuerdo al sexo

Sexo	Número de Casos	Porcentaje
Femenino	76	69
Masculino	34	31

En la Tabla II se puede apreciar que el 97.5% de pacientes se encontraban en la primera y segunda década de vida. En este estudio las edades oscilaban entre 5 y 38 años, con un promedio de 11 años de edad. A pesar que se excluyen 5 casos por falta de información de edad, se concluye que esta condición afecta predominantemente a niños y adolescentes (41).

Sin embargo, recientemente Shamloo y cols en el 2016, presentaron un caso de un paciente de 92 años, quien presentó este tipo de lesiones por un periodo de 2 meses, las cuales remitieron espontáneamente. Con esto, los autores resaltaron la importancia de no sólo considerar pacientes que se encuentren en las primeras dos décadas de vida (40) .

Tabla II. Distribución de acuerdo a la década de vida

Grupo de edad	Número de Casos	Porcentaje
1ra década	54	50.5
2da década	50	47.0
3ra década	2	2.0
4ta década	1	0.5

De acuerdo a la distribución de lesiones, la Tabla III nos indica que la mayoría de estas está ubicada en la mucosa móvil no queratinizada, con excepción del paladar blando. La mayoría de ellas se encuentran en el labio inferior y mucosa bucal. Según este estudio, de los 110 casos evaluados, sólo 3 presentaron lesiones únicas (2.8%); de los cuales 2 presentaron lesiones sólo en el labio inferior y 1 en la lengua (41).

Tabla III. Distribución de acuerdo a la localización

Localización	Número de Casos	Porcentaje
Labio superior	68	63.55
Labio Inferior	103	96.26
Mucosa Bucal Derecha	88	83.06
Mucosa Bucal Izquierda	92	85.98
Lengua	73	68.22

Las lesiones en la lengua fueron encontradas mayormente en los bordes laterales, sólo 3 casos presentaron lesiones en la cara ventral de la lengua y 1 en la cara dorsal de la misma (41).

Factores como nivel socioeconómico también han sido relacionados con la enfermedad. En la Tabla IV se dividen los casos en 5 grupos tomando en cuenta el ingreso familiar mensual. De los 110 casos estudiados, en 9 no se pudo establecer el grupo al que pertenecía. El 90% de los casos evaluados eran miembros de una familia que recibía menos de 200 dólares mensualmente. El único paciente que pertenecía a un nivel socioeconómico alto había sido criado por una mujer de 21 años de edad proveniente de un pueblo nativo de Guatemala, quien además presentaba esta afectación. No se encontró ningún caso en los 2464 niños atendidos en 5 escuelas privadas (41). Esta distribución nos indica la relación que existe entre el bajo nivel socioeconómico y la enfermedad.

Tabla IV. Distribución de acuerdo al ingreso económico mensual

Ingreso Mensual	Número de Casos	Porcentaje
< = 100 \$	83	75.0
101 a 184 \$	10	15.0
185 a 364 \$	1	0.1
365 a 910 \$	0	0.0
Más de 910 \$	1	0.1

## 2.4. Características Clínicas

Como se mencionó anteriormente, la HEF es una enfermedad de mayor prevalencia en mujeres y de inicio generalmente temprano (menores de 20 años) aunque se han descrito también diversos casos en personas de edad avanzada (6, 8, 9, 41, 54). Se caracteriza por la proliferación de lesiones múltiples, suaves a la palpación, generalmente lisas de tipo pápulo-nodulares ligeramente elevadas en la mucosa oral. Son asintomáticas en la mayoría de casos aunque pueden presentar dolor por fricción en algunas ocasiones, su color varía entre pálido al mismo color de la mucosa adyacente y usualmente tienen a desaparecer cuando se estira la lesión, volviendo a reaparecer cuando esta regresa a su posición normal. Son de crecimiento lento y hasta el momento no se ha reportado transformación neoplásica maligna. Su principal localización es el labio inferior pero también puede presentarse en mucosa retrocomisural, mucosa bucal y lengua; con menos frecuencia en labio superior, encía y paladar (41, 55). (Fig.1 y 2)



Fig. 1



Fig. 2

## 2.5. Características Microscópicas

El estudio anatomopatológico de la Hiperplasia Epitelial Focal se caracteriza por capas engrosadas de paraqueratina de carácter benigno y marcada acantosis con engrosamiento y anastomosis de las papilas epiteliales. Estas además pueden presentar hipercelularidad (6, 9, 13, 56, 57). (Fig. 3 y 4).

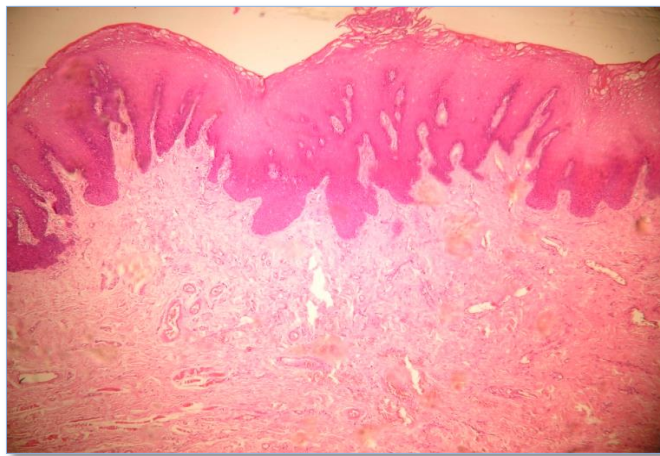


Fig. 3: Epitelio escamoso con paraqueratosis, acantosis y papilomatosis marcada, con anastomosis de papilas. H.E. 100X

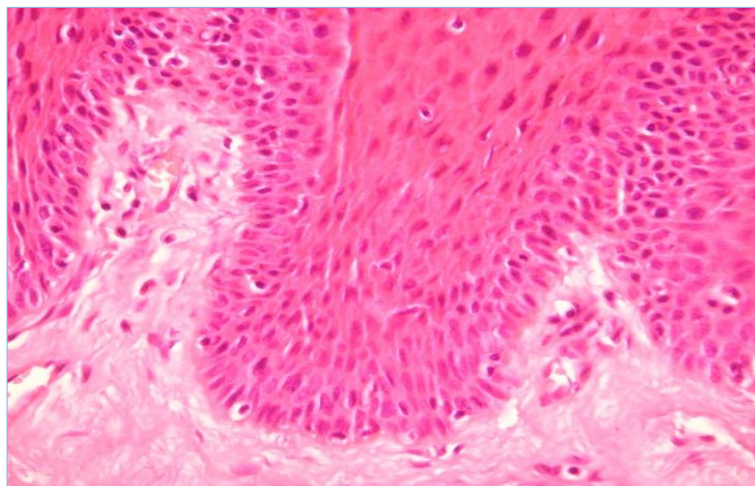


Fig. 4: Hipercelularidad y eosinofilia. H.E. 200X

Las células infectadas muestran una serie de cambios nucleares, pueden ser binucleadas y recordar una figura mitótica que es denominada “célula mitosoide” (Fig. 5); además otros cambios coilocíticos como núcleos con degeneración granular y/o picnósis. El citoplasma también puede verse afectado, podemos encontrar eosinofilia celular debido a la condensación de los paquetes de los tonofilamentos del mismo. La presencia de puentes intercelulares también es característica (6, 8, 32).

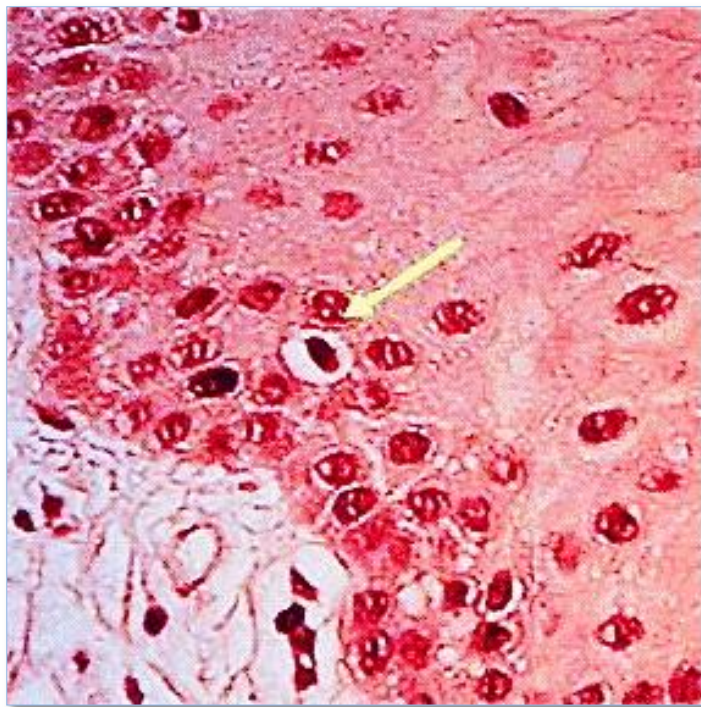


Fig. 5: Célula mitosoide. H.E. 400X

Además, en respuesta a la infección el epitelio conectivo subyacente puede presentar un ligero infiltrado inflamatorio mononuclear en la lámina propia (6, 44, 58).

## **2.6. Diagnóstico**

Cada vez que el clínico se encuentra con una lesión intraoral o perioral es importante que considere otras lesiones inducidas por el VPH entre sus diagnósticos diferenciales (59).

Como parte de la posterior evaluación clínica de estos pacientes, el clínico debe inspeccionar los dedos del paciente y superficies de piel visible, así como preguntarle si presenta lesiones similares en otras áreas del cuerpo. La educación del paciente debe incluir informar al paciente sobre la posibilidad de transmitir la enfermedad por contacto urogenital (59).

Debido a la posible relación que existe entre el VPH y el cáncer oral, el diagnóstico de estas lesiones se hace mayormente a través de las características clínicas de las lesiones junto con sus respectivas biopsias extraídas, las cuales deben ser procesadas y evaluadas por un especialista para confirmar el diagnóstico definitivo. En adición, a partir del año 70, cuando se hallaron partículas de VPH en las lesiones; se incrementaron los estudios en el área de Biología Molecular que incluye la Hibridación del ADN “in situ” y la Reacción en cadena de la Polimerasa (RCP), las cuales han sido muy útiles para identificar los tipos de VPH involucrados y dar un gran avance a la ciencia (2, 5, 32, 33, 36, 60).



### 2.6.1 Reacción en cadena de la Polimerasa (RCP)

La RCP es una técnica *in vitro* de amplificación enzimática del ADN y utiliza dos oligonucleótidos sintéticos (Oligómeros), que presentan secuencias complementarias a los extremos 3' de la porción de ADN que se desea amplificar. Estos oligonucleótidos sirven como cebadores de extensión específicos (*primers*), para el ADN polimerasa presente en la reacción.

El proceso de amplificación por PCR involucra la repetición de varios ciclos y cada uno de ellos consta de 3 pasos: separación de hebras de ADN por calor (desnaturalización), anclaje de los cebadores de extensión a los extremos del fragmento y extensión de los cebadores (síntesis de nuevas cadenas de ADN).

Mediante la PCR se puede obtener millones de copias de secuencias específicas del genoma de un organismo y es un proceso rápido y muy sensible, ya que sólo se necesitan algunas secuencias originales en la muestra para obtener un resultado positivo. Además, ya que el producto sintetizado en el primer ciclo sirve como referencia para el siguiente ciclo, el número de copias de ADN normalmente es duplicado en cada ciclo.

Este procedimiento permite identificar virus y bacterias, y en este caso en particular fue utilizado para evaluar la presencia del VPH- 13 y VPH-32.

## 2.7. Pronóstico y Tratamiento

El pronóstico de la enfermedad es bueno si tomamos en cuenta que la mayoría de lesiones va a remitir espontáneamente, sin embargo, se considera que el control clínico periódico es importante (56, 61).

Aquellas lesiones que no remiten espontáneamente o que causan problemas funcionales y/o estéticos pueden extirparse quirúrgicamente (62). Otras opciones de tratamiento incluyen la crioterapia, electrocoagulación, láser, agentes químicos como el ácido retinoico e inmunoestimulantes como el interferón (63-66).

Kose y cols publicaron un caso de un joven caucásico de 21 años tratado con Interferón  $\alpha$ -2 $\beta$  intramuscular, 3 veces al día durante 14 semanas. Las lesiones remitieron parcialmente después de 2 meses de finalizar el tratamiento (67).

Por otro lado, Akyol y cols demostraron el éxito del tratamiento utilizando la terapia con láser de CO<sub>2</sub> en conjunto con Interferón  $\alpha$ -2 $\beta$ , con el objetivo de aumentar la efectividad del tratamiento. El paciente recibió 3 sesiones de láser de CO<sub>2</sub> bajo anestesia general y 8 meses de tratamiento con Interferón  $\alpha$ -2 $\beta$ . Luego, realizaron dos años de seguimiento, y las lesiones no remiten (65).

Steinhoff y cols publicaron un caso parecido, en el que el paciente recibe un tratamiento tópico con Interferon-2b por doce semanas y luego un seguimiento por 7 meses. Debido a que las lesiones no remitieron, los autores concluyeron que este tratamiento es superior por ser no-invasivo (64).

Como demuestra la literatura, existen diferentes opciones de tratamiento, pero hace falta más estudios con mayor número de casos que puedan confirmar estas teorías.

Otro tema muy discutido, ha sido la posibilidad de malignización de la enfermedad. En la última revisión sistemática de Bascones y cols en el 2015, después de una selección de 8 artículos de 831 publicaciones; se concluye que no existe evidencia suficiente para demostrar el carácter maligno de la enfermedad. Hasta el día de hoy, es la única revisión que evalúa este tema (68).

### **3.- JUSTIFICACIÓN**

Las enfermedades que afectan al ser humano pueden variar considerablemente en el tiempo y la Hiperplasia Epitelial Focal no es una excepción. Aunque es una enfermedad poco común en España y Europa, nosotros como profesionales de la salud; debemos ser capaces de diagnosticar y tener en cuenta. Esto, debido al gran número de inmigrantes presentes en España, los cuales generalmente provienen de regiones con mayor prevalencia de esta enfermedad.

Asimismo, es importante para el clínico, tener un conocimiento básico de la epidemiología, etiología, características clínicas e histopatológicas, pronóstico y opciones de tratamiento, con el objetivo de realizar un manejo óptimo del caso.

Hasta el día de hoy; no se ha realizado un estudio con una muestra mayor a 2 pacientes que incluya la tipificación del VPH y su relación con las localizaciones en la cavidad oral.

## **4.- HIPÓTESIS DE TRABAJO**

La Hiperplasia Epitelial Focal se encuentra relacionada al VPH-13 y VPH-32 y existe una relación entre la localización de la lesión y el tipo de VPH.

## **5.- OBJETIVOS**



**Objetivo primario:**

- ✓ Identificar y tipificar la presencia del VPH en una serie de 47 pacientes con diagnóstico histopatológico de HEF, así como la relación que existe entre la localización de las lesiones y el tipo de VPH.

**Objetivos secundarios:**

- ✓ Análisis de características demográficas.
- ✓ Análisis de características clínicas.
- ✓ Análisis de características Histopatológicas.

## **6.- MATERIAL Y MÉTODOS**

## **6.1. Diseño de estudio**

Estudio retrospectivo sobre una serie de 47 pacientes con muestras en bloques de parafina, previamente diagnosticados con Hiperplasia Epitelial Focal.

La aprobación del comité ético fue obtenida previo al inicio del estudio (Fecha: 24/06/2011) por el Hospital Clínico San Carlos (código interno: 11/226-E). Todos los pacientes firmaron un consentimiento informado emitido por la Clínica Universitaria Cayetano Heredia.

## **6.2. Población de estudio**

Se seleccionaron todas las fichas de los pacientes con diagnóstico clínico e histopatológico de Hiperplasia Epitelial Focal, procedentes del departamento de Medicina y Patología Oral de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (Lima-Perú) emitidas durante el periodo comprendido entre los años 1991 y 2010.

Los casos seleccionados cumplieron con los siguientes criterios:

### **6.2.1. Criterios de inclusión**

- ✓ Pacientes con diagnóstico primario de HEF.
- ✓ Pacientes con diagnóstico clínico e histopatológico de Hiperplasia Epitelial Focal emitido por un especialista en Medicina y Patología Oral.

- ✓ Datos de Historia Clínica completos y que incluyan: edad, sexo, número de lesiones, localización de lesiones.
- ✓ Pacientes sistémicamente sanos.
- ✓ Bloques de parafina en buenas condiciones y con suficiente material para obtener nuevas láminas y realizar procedimientos de extracción de ADN, para el posterior análisis.

#### **6.2.2. Criterios de exclusión**

- ✓ Pacientes en los que no se pueda confirmar el diagnóstico histopatológico de HEF mediante el análisis de los nuevos cortes histológicos.

### **6.3. Recogida de datos**

Para la toma y registro de datos se completó una ficha grupal dividida por casos, con los datos clínicos más relevantes desde el punto de vista etiológico. Se asignaron códigos a todos los pacientes en forma consecutiva. Los datos y las variables que se registraron fueron los siguientes:

- Número de historia clínica
- Edad.
- Sexo: Varón, mujer.
- Fecha de diagnóstico

- Localización anatómica.
- Número de lesiones: múltiples o única
- Observaciones: hábitos, datos familiares o alguna información que se considere relevante.

#### **6.4. Procesado de las muestras**

El procesado de las muestras se realizó a partir de los bloques de parafina procedentes de cada paciente. Los cortes histológicos obtenidos fueron teñidos con hematoxilina-eosina (H.E.) y luego de la confirmación del diagnóstico, se analizaron utilizando la técnica de RCP en el Laboratorio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

##### **6.4.1 Técnica de inclusión en parafina**

1. Para facilitar el procedimiento, es necesario endurecer los bloques de parafina; por este motivo, estos se sometieron a una temperatura de -5°C por 10 minutos.
2. Con el uso de un micrótopo, se realizaron cortes de 3 micras de espesor.
3. Se trasladaron los cortes al flotador con agua caliente (50-54°C), utilizando una pinza.
4. Se retiraron del flotador y se rotularon con el código del paciente.
5. Se trasladaron las láminas a una secadora a 50°C por 10 minutos.
6. Finalmente, se retiraron de la estufa y se dejaron enfriar para luego realizar la coloración de las mismas.

#### 6.4.2. Técnica de coloración

1	Xilol por 5 minutos	<b>Desparafinización:</b> Para quitar la parafina, se pasan por 3 baños de xilol.
2	Xilol por 5 minutos	
3	Xilol por 5 minutos	
4	Alcohol al 100% por 3 minutos	<b>Hidratación:</b> uso de alcoholes en concentración decreciente.
5	Alcohol al 95% por 2 minutos	
6	Alcohol al 95% por 1 minuto	
7	Agua de grifo por 1 minuto	
8	Hematoxilina Harris por 3 minutos	<b>Coloración de núcleo</b>
9	Agua de grifo por un minuto	
10	Alcohol ácido al 1% durante 2 segundos (meter y sacar)	<b>Decoloración</b>
11	Agua de grifo por 1 minuto.	
12	Agua amoniacal. Durante 5 segundos.	<b>Cambio de color</b>
13	Agua de grifo por un minuto	
14	Eosina Y (pícnica) por 5 a 10 segundos	<b>Coloración del citoplasma.</b>
15	Alcohol al 95% por 2 minutos	<b>Deshidratación:</b> alcoholes en concentración creciente.
16	Alcohol al 95% por 2 minutos	
17	Alcohol al 100% por 2 minutos	
18	Alcohol al 100% por 2 minutos	
19	Xilol por 2 minutos	<b>Aclaramiento:</b> 3 baños de xilol.
20	Xilol por 2 minutos	
21	Xilol por 2 minutos	
22	Montar con bálsamo de Canadá las láminas con laminillas cubreobjetos	<b>Montaje</b>

## **6.5. Confirmación del Diagnóstico de HEF**

Debido a la antigüedad de las muestras y la heterogeneidad de los profesionales que diagnosticaron a estos pacientes; se consideró necesario confirmar el diagnóstico de HEF, con el apoyo de dos especialistas en Medicina y Patología Oral (WD & JC).

Para la evaluación, se utilizó un microscopio marca Olympus modelo B51 con módulo multicabestal en donde ambos profesionales realizaron el diagnóstico de manera independiente. El grado de concordancia fue de 100%. En esta fase se excluyeron los casos con diagnóstico dudoso o negativo a la enfermedad.

Por otro lado, los casos con diagnóstico HEF fueron incluidos para el procedimiento de extracción de ADN y posterior análisis con RCP.

## **6.6. Análisis de las características Histopatológicas.**

Después de la confirmación del diagnóstico histopatológico, se obtuvo 47 casos de pacientes, que se incluyeron en el estudio.

Con el uso de una tabla previamente diseñada de acuerdo a la revisión de la literatura realizada (Anexo 2), se registraron los datos. En los casos en los que el paciente presentó más de una localización, se eligió una de ellas de manera aleatoria. Las variables histopatológicas consideradas fueron:

- a. Número de capas celulares: Se eligió el campo que se encontraba más paralelo y con el uso de un contador de mano se realizó el conteo de las capas en el epitelio. El conteo se efectuó desde el interior al exterior del epitelio.
- b. Arquitectura de Clavos Epiteliales: Realizamos una vista a 100X e indicamos si la arquitectura es red, puntiforme o ancha.
- c. Mitosis: Indicamos si existe mitosis en cualquiera de sus estadios y la ubicación de la misma en el epitelio, el cual fue dividido en basal, espinoso y superficial.
- d. Figuras Mitosoides: Se indicó la presencia de células mitosoides y su ubicación en el epitelio, el cual fue dividido en basal, espinoso y superficial.
- e. Cambios Coilocíticos: Se indicó la presencia de cambios coilocíticos característicos por la picnosis del núcleo y cambios en la morfología del mismo. Además su ubicación en el epitelio, el cual fue dividido en basal, espinoso y superficial.
- f. Eosinofilia celular: Se indicó la presencia de cambios en la coloración de las células, en los casos que haya tornado eosinofílica se registró como positivo.
- g. Puentes intercelulares: Se indicó si hay presencia de los mismos en cualquier ubicación del campo.
- h. Paraqueratinización: Se indicó si hay presencia de la misma en cualquiera de los campos.
- i. Hiper celularidad de crestas epiteliales: Se indicó si hay presencia de la misma en cualquiera de los campos.
- j. Superficie epitelial: Esta puede ser papilomatosa, condiloide o plana.
- k. Reacción inflamatoria subepitelial: Se indicó si hay presencia de células inflamatorias.



Todos estos datos fueron marcados con una “X” en la columna correspondiente, en caso de ser positivo.

## **6.7. Extracción de ADN**

Se analizaron todos los casos. Las muestras embebidas en parafina se guardaron a temperatura ambiente y la extracción de ADN se realizó en un ambiente exclusivo para este proceso, siguiendo el protocolo INNO-LiPA (*Dal Bello et al 2009*). En cada grupo de muestras procesadas se incluyó controles negativos (muestras de apéndice) por poseer una localización en la que definitivamente no encontremos el VPH.

El propósito del Protocolo INNO-LiPA es extraer el ADN a partir de tejidos embebidos en parafina. Y el método utilizado fue el siguiente:

1. Se cortaron 3 piezas de 10µM con una técnica limpia, utilizando una cuchilla por muestra para evitar una contaminación cruzada.
2. Se almacenaron en un tubo *ependorf* de 1.5ml rotulado con el código del paciente.
3. Se preparó el ambiente de trabajo limpiando todas las superficies y materiales: primero con una solución de hipoclorito al 10% seguida por otra de EtOH al 70%.
4. Se preparó la extracción como sigue:

Reactivos	Vol/250uL por reacción
<b>Proteinasa K</b>	12.5
<b>Tris, pH 8.0</b>	125
<b>EDTA</b>	0.5
<b>Laureth-12</b>	12.5
<b>H<sub>2</sub>O</b>	99.5
	<b>250.0</b>

Se realizaron 5 reacciones por vez para evitar la contaminación de las muestras. Además, en cada ocasión preparamos el material para 7 reacciones, tomando en cuenta la posibilidad de algún error en el pipeteo.

- Obtuvimos toda la extracción preparada en un solo tubo.
- Utilizando una nueva punta, abrimos los tubos que contenían los especímenes.
- Agregamos 250µL de la extracción a cada tubo de especímenes y lo cerramos.
- Repetimos los pasos 4 y 5 para cada espécimen, y nos aseguramos siempre de cambiar de punta antes de pipetear.
- Incubamos las muestras en un bloque caliente durante toda la noche a 56°C.
- Al día siguiente, programamos la máquina a 100°C.
- Transferimos los especímenes de 56°C a 100°C y nos aseguramos de colocar algún cubo pesado sobre ellos para evitar que se abran durante el proceso.
- Incubamos los especímenes a 100°C por 5 minutos.
- Centrifugamos los especímenes a 13000 rpm por 5 minutos.
- Una vez extraído el ADN, almacenamos los tubos a -20°C hasta que sea el

momento de realizar el RCP.

Previo a la genotipificación, realizamos la cuantificación del ADN extraído con el uso del Nano Drop 2000. Para un procedimiento óptimo, en todas las muestras se debía encontrar como mínimo un promedio 5 ng/μL de ADN.

## **6.8 REACCION EN CADENA DE LA POLIMERASA (RCP)**

La RCP es una técnica de biología molecular, cuyo objetivo es obtener un gran número de copias de un fragmento de ADN particular. Este procedimiento permite identificar virus y bacterias, y en este caso en particular fue utilizado para evaluar la presencia del VPH- 13 y VPH-32.

La RCP se realizó independientemente para cada tipo de VPH, pero las condiciones fueron las mismas.

Adicionalmente, con el fin de evaluar la calidad del ADN utilizado y evitar potenciales inhibidores para RCP, se utilizó la proteína humana  $\beta$  -globina como control interno y muestras de apéndice humana como control negativo.

La globina es una proteína de predominio globular que forma parte de la hemoglobina. Existen varios tipos de cadenas de globinas y son designadas mediante letras griegas: alfa, beta, gamma, etc. Estas proteínas se encuentran presentes en todos los humanos, por lo tanto, al realizar un RCP de cualquier muestra humana (mucosa, sangre, saliva,

etc.) usando *primers* que amplifican esta secuencia de ADN del gen, el resultado debe ser positivo.

Por otro lado, se utilizaron muestras de apéndice humana como control negativo debido a la ausencia del VPH en esta localización. El número total de muestras fue de 10 y estas fueron proporcionadas por el departamento de Patología del Hospital Cayetano Heredia (Lima- Perú). Adicionalmente, estas muestras también fueron utilizadas como controles internos, ya que debido a su procedencia, se esperó un resultado positivo cuando se utilizaron los *primers* para la proteína  $\beta$ -globina.

#### **6.8.1 Cebadores o *primers* utilizados**

##### **a. Papiloma Virus Humano 13:**

Plagen 1: 5'-TATAGTGTGGCGAGGACAGTTTC-3'

Plagen 2: 5'-TAGCA-CATCCAAAATTGACTGC-3'

Amplificaron específicamente un fragmento de 147 pares de bases.

##### **b. Papiloma Virus Humano 32**

Plagen 1: 5'-GTAACCGGACAATGGGAGGTA-3'

Plagen 2: 5'-GGTGTGTATAGGTCGGTGGTT-3'

Amplificaron específicamente un fragmento de 140 pares de bases.

##### **c. Proteína Beta-globina**

Plagen 1: 5'-CAACTTCATCCACGTTTACC- 3'

Plagen 2: 5'-GAAGAGCCAAGGACAGGTAC- 3'

Amplificaron específicamente un fragmento de 290 pares de bases.

### 6.8.2 Procedimiento

El procedimiento para la detección de PVH-13 y PVH-32 se realizó en un volumen total de 25µl conteniendo 10 µM de tris HCl (pH 8.3), 50µM KCl; 2µM de MgCl<sub>2</sub>, 200µM de cada desoxinucleótido (dATP, dGTP, dCTP y dUTP), 0.5µM de cada *primer*, 1 unidad de *Taq* Polimerasa y una concentración de 3ng de ADN.

Se utilizó el Termociclador *PTC-100 MJ Research* y las condiciones de la amplificación fueron las siguientes:

Tiempo	Temperatura
5 minutos (1 ciclo)	95° C
30 segundos (39 ciclos)	95° C
30 segundos (39 ciclos)	55° C
30 segundos (39 ciclos)	72° C
10 minutos (1 ciclo)	72° C

La reacción de la mezcla se llevó a cabo en un gel de agarosa al 2% (*Invitrogen, life technologies*) a 90 mA, con un voltaje constante durante 45 minutos. En cada procedimiento se utilizaron marcadores de peso molecular.

Luego, el gel fue coloreado con bromuro de etidio y se visualizaron los hallazgos con ayuda de un transiluminador de luz ultravioleta. El producto de amplificación que se

esperó observar fue de 147pb para PVH-13, 140pb para PVH-32 y 290pb para el control interno (proteína  $\beta$ -globulina).

Los resultados se registraron en una tabla diseñada para este estudio (anexo 2).

## **6.9 Análisis estadístico:**

El análisis estadístico de los datos se realizó con el programa informático SPSS Windows 22.0.0.0 (IBM, Chicago, Illinois, EE.UU.).

Para todos los análisis se tomó como nivel de confianza el 99% (0,01), y los métodos estadísticos utilizados fueron los siguientes:

- Test de Chi2 para el análisis de las distribuciones de las variables tales como rango de edad, género, localización y características histopatológicas.
- Tablas de contingencia para la relación entre variables cualitativas (procedimiento CROSSTABS). Test Exacto de Fisher para contrastar la independencia o influencia entre dos variables cualitativas, con información en cada casilla de la tabla de contingencia del porcentaje en fila y los residuos corregidos no tipificados para ayudar a descubrir las tramas en los datos que contribuyen a una influencia significativa. (Everitt, 1992 y Ferrán, 1996).

- Árboles de clasificación (procedimiento TREE), gráficos que ilustran reglas de decisión de forma que parten de un nodo raíz que contiene todas las observaciones de la muestra y a medida que se desplaza por el árbol, los datos se ramifican en subconjuntos de datos que se excluyen mutuamente. Se realiza para segmentar, estratificar, predecir e identificar interacciones de variables en la muestra. (IBM SPSS, 2013).

## **7.- RESULTADOS**



## 7.1. Características demográficas

### Edad

De los 47 casos presentados se observó que la edad promedio fue de 19 años (DE 17.03), siendo la mayoría de los evaluados (77%) personas jóvenes de edades comprendidas entre los 0 años a 20 años. El rango de edad de las personas evaluadas fue de 4 a 71 años.

La mediana de los datos fue de 11, es decir el 50% de los evaluados presentó edades menores a 11 años y el otro 50% restante presentó edades mayores a este valor.

Gráfico N°1  
Edad

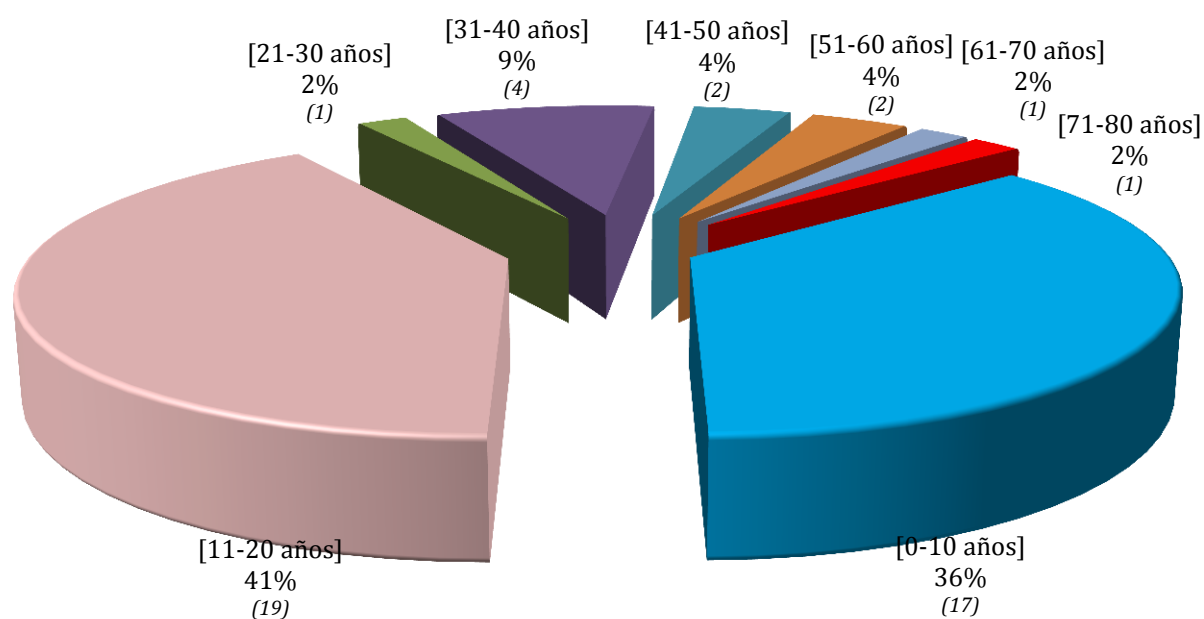


Tabla V. Análisis Descriptivo de Edad

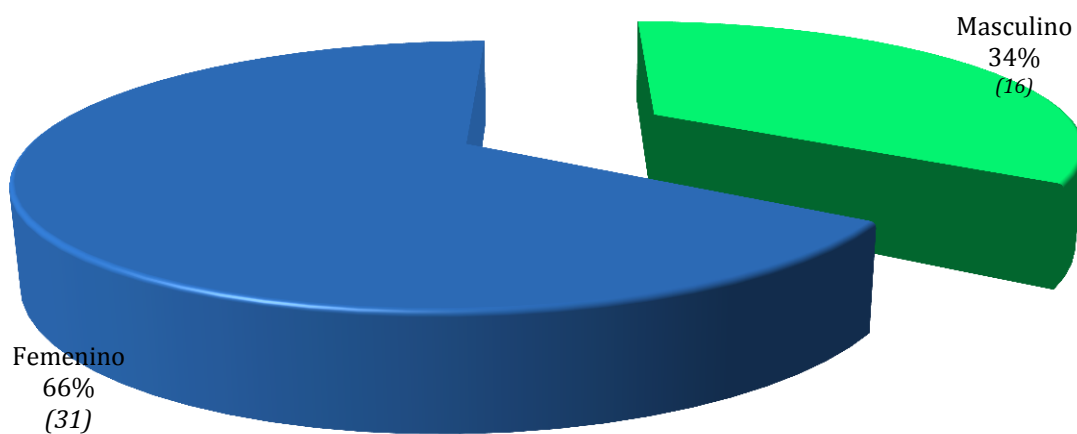
<b>Tamaño de muestra</b>	47
<b>Media</b>	19.17
<b>Mediana</b>	11.00
<b>Desviación Estándar</b>	17.03
<b>Mínimo</b>	4
<b>Máximo</b>	71

### Género

De los 47 casos presentes en el estudio, 31 de ellos fueron de sexo femenino (66%) y 16 de sexo masculino (34%).

Gráfico N° 2

Género



## 7.2. Características clínicas

### Localización

La localización de lesión que fue encontrada en mayor proporción con respecto al resto fue la de labio inferior: 43%, es necesario recalcar que algunos de los pacientes presentaron lesiones en diferentes localizaciones.

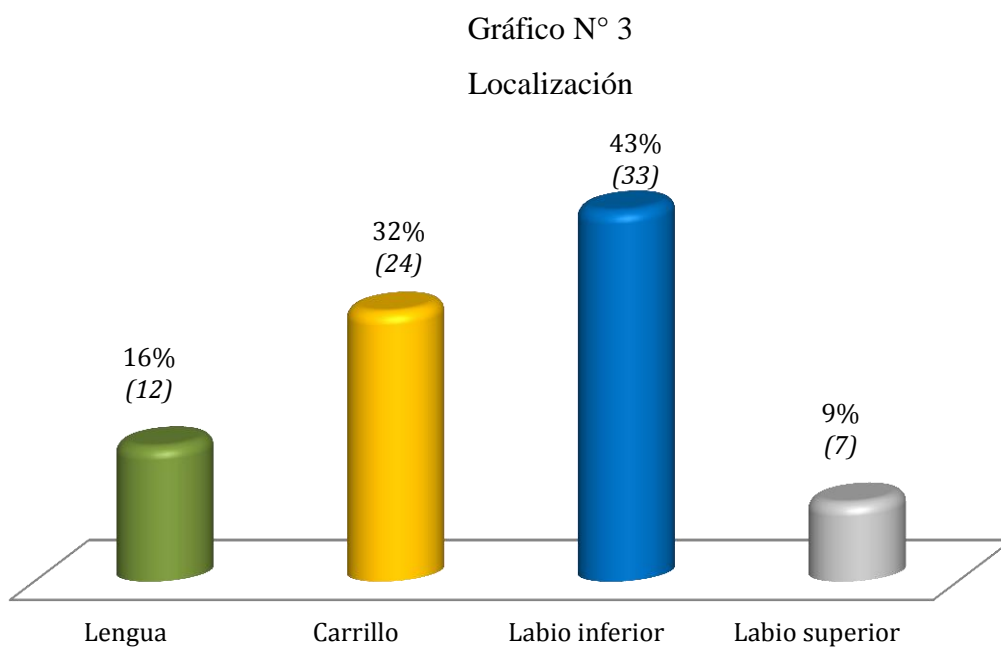


Tabla VI. Frecuencia y Porcentaje de Localización

	Frecuencia	Porcentaje
Lengua	12	16%
Mejilla	24	32%
Labio inferior	33	43%
Labio superior	7	9%
Total	76	100%

### 7.3. Características histopatológicas

#### Número de Capas celulares

El número de capas celulares promedio fue de 38.74 (DE 2.558), observándose que el 51% de los individuos presentaron entre 39 y 41 capas celulares; siendo la mediana de 39, es decir el 50 % de los evaluados tuvieron menos de 39 capas celulares y el 50% restante presentó más de 39 capas celulares. La cantidad mínima de capas celulares encontradas fue igual a 32, y la máxima fue de 43.

Gráfica N° 4

Número de Capas Celulares

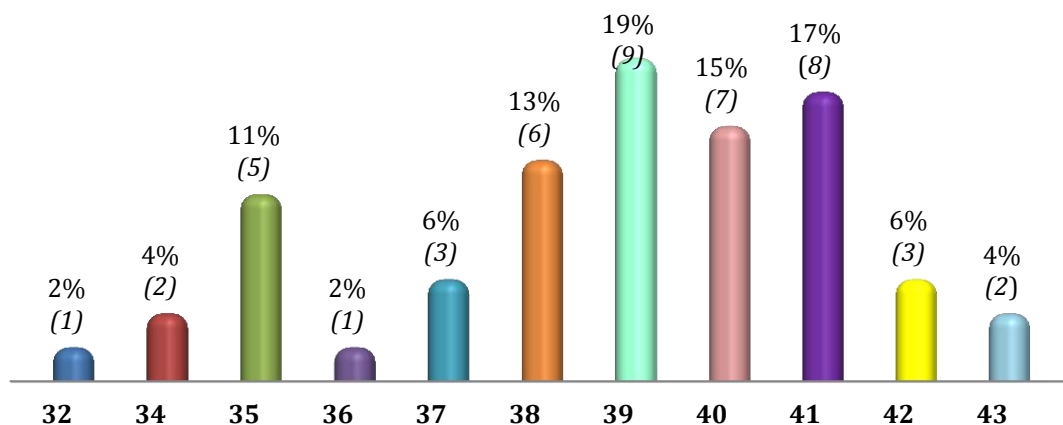


Tabla VI. Análisis descriptivo de número de Capas Celulares

N	47
Media	38.74
Mediana	39.00
Desviación Estandar	2.558
Mínimo	32
Máximo	43

## Arquitectura Clavos Epiteliales

De los 47 individuos, se obtuvo 77 respuestas, es decir más de una persona presentó más de un tipo de patrón. Se observó que la mayoría de los individuos (48%) presentó arquitectura de clavos epiteliales de tipo Ancho.

Gráfica N° 5

Arquitectura de Clavos Epiteliales

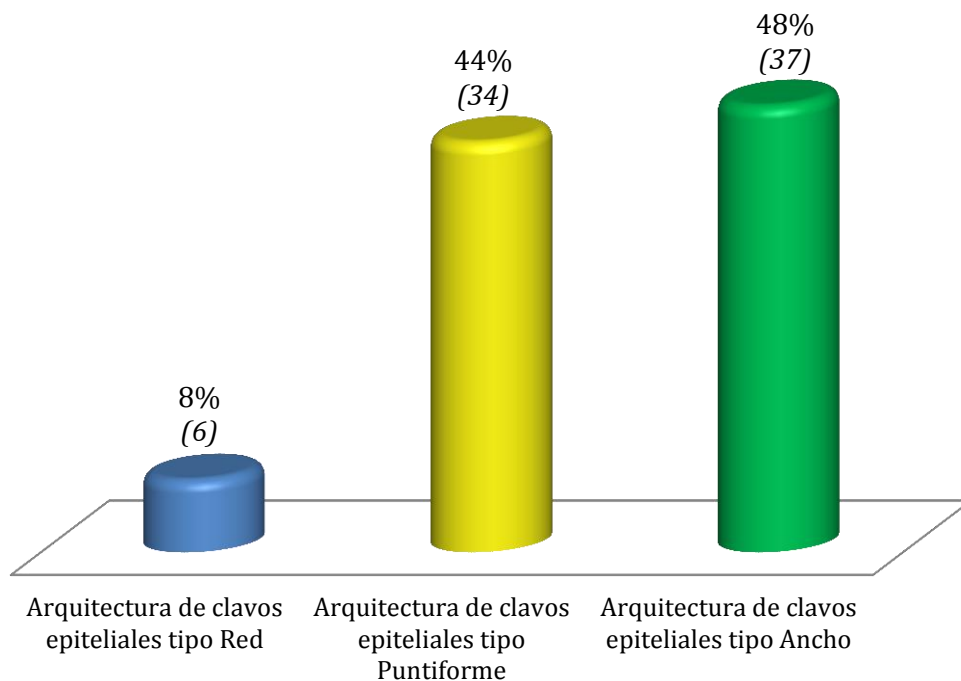


Tabla VII. Frecuencia y Porcentaje de Arquitectura de Clavos Epiteliales (C.E.).

Arquitectura C.E.	Frecuencia	Porcentaje
Tipo Red	6	8%
Tipo Puntiforme	34	44%
Tipo Ancho	37	48%
Total	77	100%

## Mitosis

De los 47 casos evaluados, solo 25 de ellos presentaron algún tipo de mitosis.

Ninguno de los pacientes presentó mitosis en la capa superficial.

Gráfica N° 5

### Mitosis

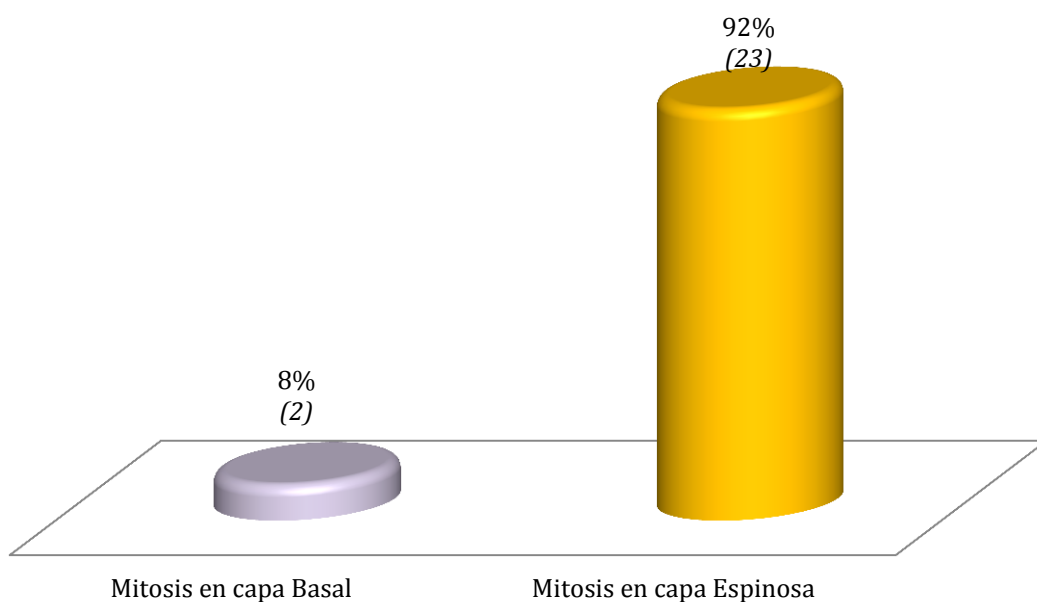


Tabla VIII. Frecuencia y Porcentaje de Mitosis

	Frecuencia	Porcentaje
Capa Basal	2	8%
Capa Espinosa	23	92%
Total	25	100%

## Figuras Mitosoides

Las personas evaluadas presentaron figuras mitosoides en la capa basal y/o espinosa. Sin embargo, sólo se encontró un individuo que presentaba ambos tipos de figuras mitosoides.

Ninguno de los evaluados presentó figuras mitosoides en la capa superficial.

Gráfica N° 6

Figuras Mitosoides

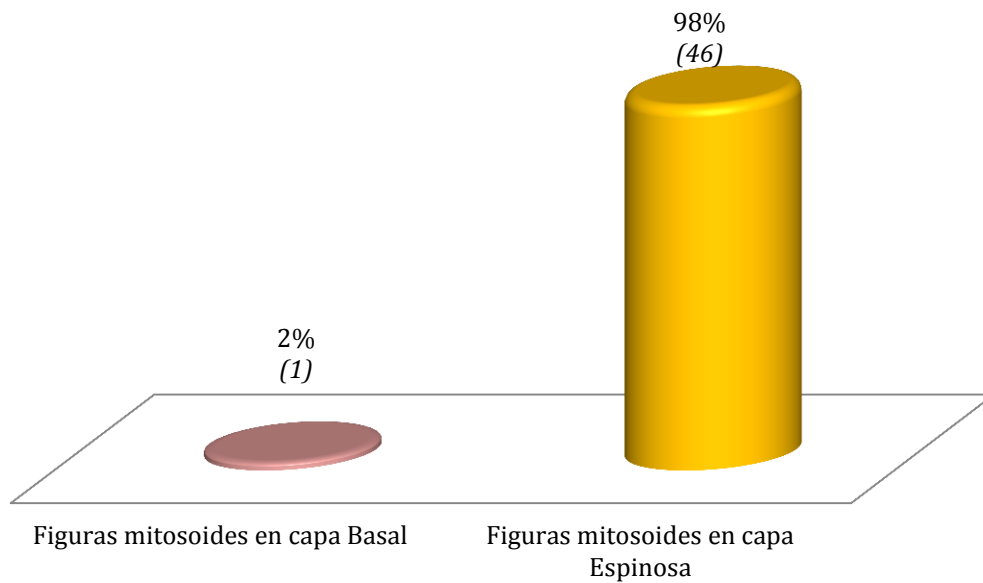


Tabla IX. Frecuencia y Porcentaje de Figuras Mitosoides (F.M.)

	Frecuencia	Porcentaje
Capa Basal	1	2%
Capa Espinosa	46	98%
Total	47	100%

**Cambios Coilocíticos**

Ninguno de los individuos presentó cambios coilocíticos en la capa superficial y no todos los evaluados presentaron algún cambio en los coilocitos, ya que sólo 35 casos de los 47 presentados, fueron positivos. El 97% de los casos positivos presentó cambios coilocíticos en la capa espinosa.

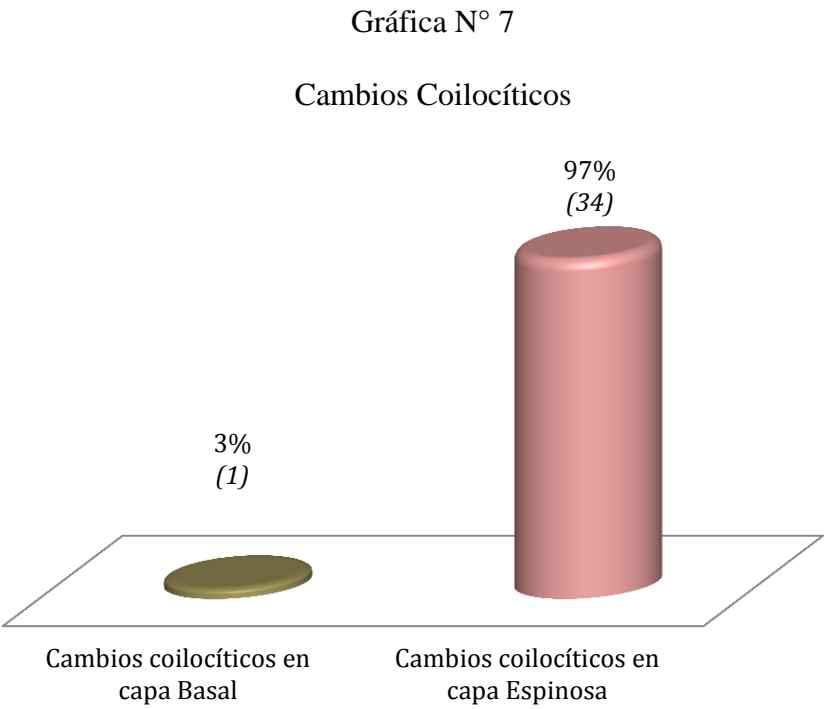


Tabla X. Frecuencia y Porcentaje de Cambios Coilocíticos

	Frecuencia	Porcentaje
Capa Basal	1	3%
Capa Espinosa	34	97%
Total	35	100%



**Eosinofilia Celular, Puentes Intercelulares y Paraqueratinización**

Los 47 individuos evaluados presentaron Eosinofilia Celular, Puentes Intercelulares y Paraqueratinización.

**Hipercelularidad de Crestas Epiteliales**

El 98 % de los individuos presentó hipercelularidad de crestas epiteliales.

Gráfica N° 8  
Hipercelularidad de Crestas Epiteliales

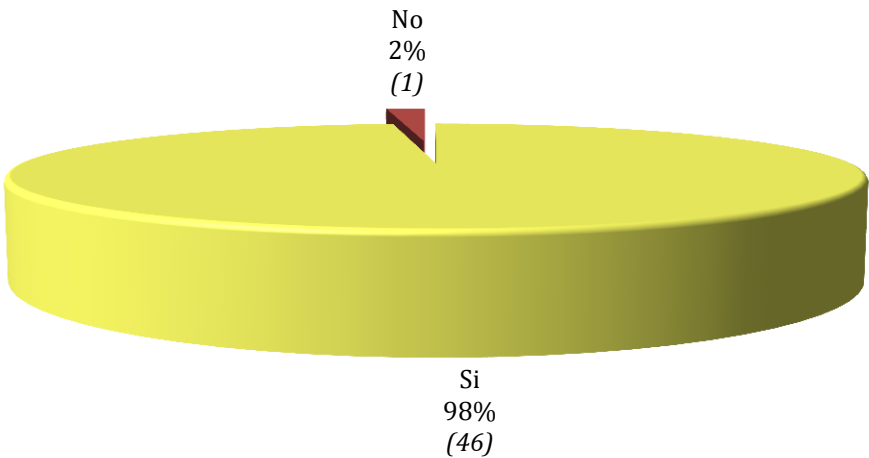


Tabla XI. Frecuencia y Porcentaje de Hipercelularidad de Crestas Epiteliales.

	Frecuencia	Porcentaje
Sí	46	98%
No	1	2%
Total	47	100%

## Superficie Epitelial

De la muestra total, ninguno de los pacientes presentó un patrón de superficie epitelial papilomatosa. Por otro lado, se observó que más de la mitad de los pacientes presentaba una superficie epitelial de tipo condiloide.

Gráfica N° 9

### Superficie Epitelial

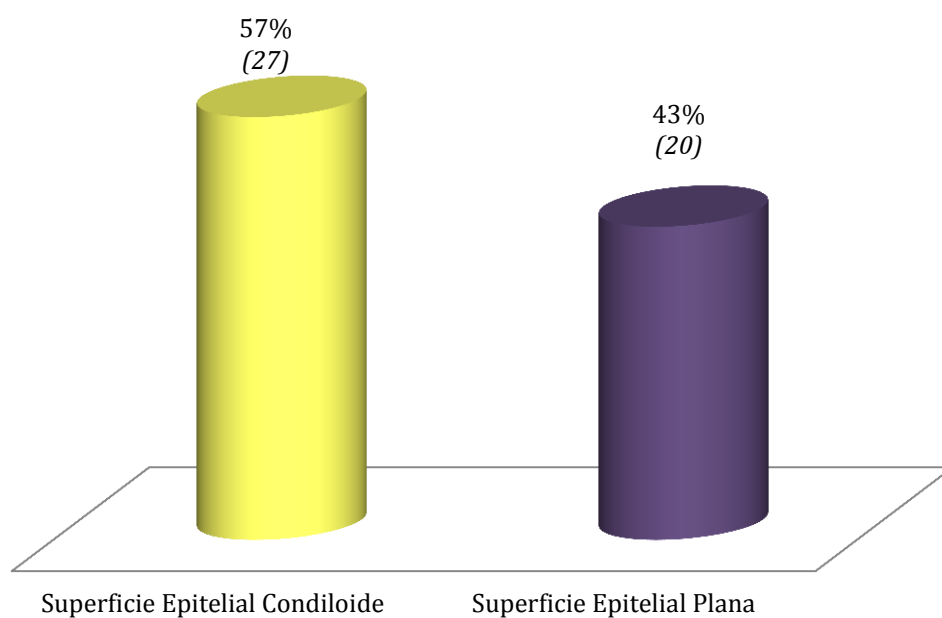


Tabla XII. Frecuencia y Porcentaje de la Superficie Epitelial (S.E.)

	Frecuencia	Porcentaje
S.E. Condiloide	27	57%
S.E. Plana	20	43%
Total	47	100%

**Reacción Inflamatoria Subepitelial**

De los 47 casos, el 98% presentó una reacción inflamatoria subepitelial. Por otro lado, sólo el 2% de ellos no presentó este hallazgo.

Gráfica N° 10

Reacción Inflamatoria Subepitelial

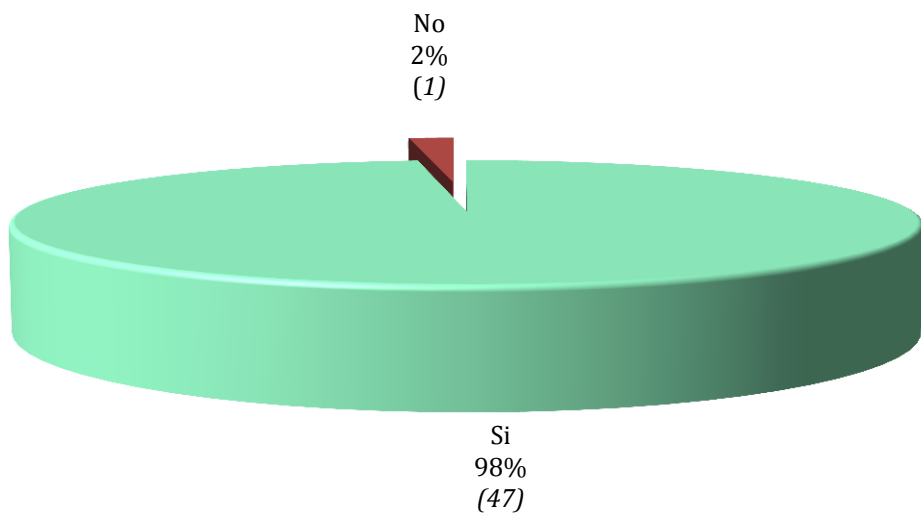


Tabla XIII. Frecuencia y Porcentaje de la Reacción Inflamatoria Subepitelial

	Frecuencia	Porcentaje
Sí	46	98%
No	1	2%
Total	47	100%

#### 7.4. Identificación y tipificación del VPH

El 47,2% de los pacientes presentó VPH 13, por otro lado, el 52,1% de sujetos VPH 32. Además, Existen diferencias significativas al 95% (Fisher  $p<0.001$ ) en la presencia del tipo de HPV entre las localizaciones. En labio inferior hay una alta presencia (80.6% respecto a un 47.9% esperado) de HPV13, mientras que en lengua y mejilla se observa una alta presencia (92.9% y 81.0% respectivamente respecto a un 52.1% esperado) de HPV32.

Tabla XIV. Localización de VPH

		VPH		Total
		13	32	
Localización	labio inferior			
	% localización	80,6%	19,4%	100,0%
	Residual	10,1	-10,1	
	labio superior			
	% localización	71,4%	28,6%	100,0%
	Residual	1,6	-1,6	
	lengua			
	% localización	7,1%	92,9%	100,0%
	Residual	-5,7	5,7	
	mejilla			
	% localización	19,0%	81,0%	100,0%
	Residual	-6,1	6,1	
Total				
% localización		47,9%	52,1%	100,0%

## 7.5. Relación entre localización y tipo de VPH

### Virus del Papiloma Humano 13

Existen diferencias significativas al 95% (Fisher  $p<0.001$ ) en la presencia de HPV13 entre las localizaciones. En labio inferior hay una alta presencia (75.8% respecto a un 46.1% esperado), mientras que en lengua y mejilla se observa una baja presencia (7.1% y 18.2% respectivamente respecto a un 46.1% esperado).

Tabla XV. Relación entre localización y VPH 13

			HPV13		Total
			Negativo	Positivo	
Localización	labio inferior	Total	8	25	33
		% Localización	24,2%	75,8%	100,0%
		Residual	-9,8	9,8	
	labio superior	Total	2	5	7
		% Localización	28,6%	71,4%	100,0%
		Residual	-1,8	1,8	
	lengua	Total	13	1	14
		% Localización	92,9%	7,1%	100,0%
		Residual	5,4	-5,4	
	mejilla	Total	18	4	22
		% Localización	81,8%	18,2%	100,0%
		Residual	6,1	-6,1	
Total	Total	41	35	76	
	% Localización	53,9%	46,1%	100,0%	

## Virus del Papiloma Humano 32

Existen diferencias significativas al 95% (Fisher  $p<0.001$ ) en la presencia de HPV32 entre las localizaciones. En labio inferior hay una baja presencia (18.2% respecto a un 50.7% esperado), mientras que en lengua y mejilla se observa una alta presencia (92.9% y 77.3% respectivamente respecto a un 50.7% esperado).

Tabla XV. Relación entre localización y VPH 32

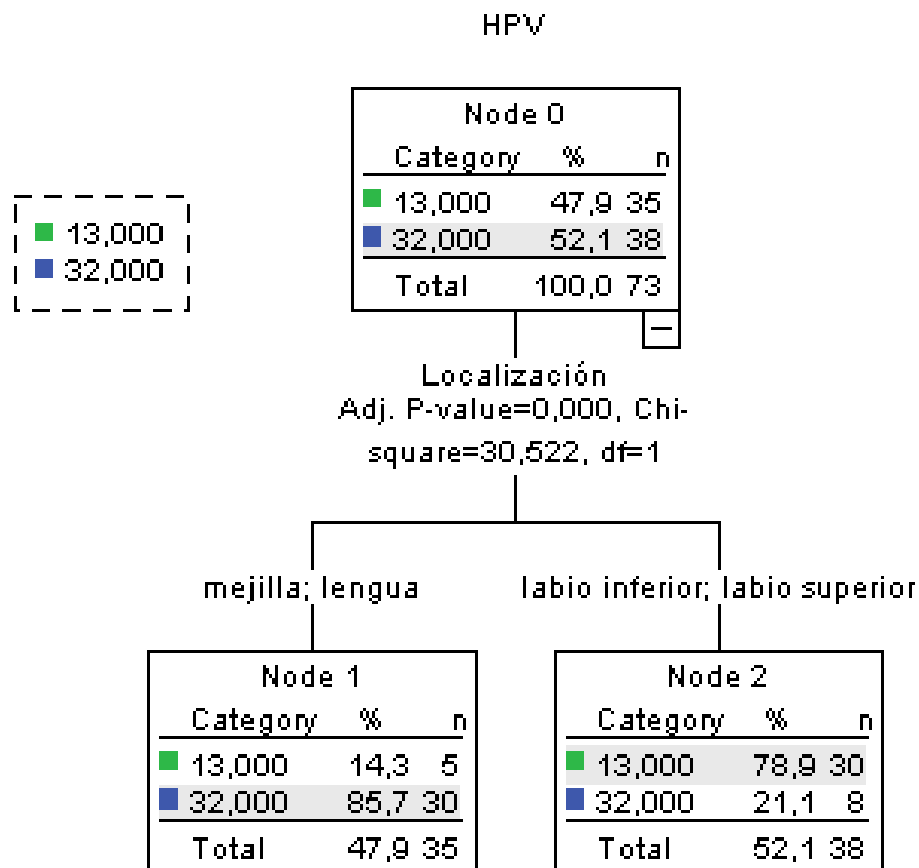
			HPV32		Total
			Negativo	Positivo	
Localización	labio inferior	Total	27	6	33
		% Localización	81,8%	18,2%	100,0%
		Residual	10,7	-10,7	
	labio superior	Total	4	2	6
		% Localización	66,7%	33,3%	100,0%
		Residual	1,0	-1,0	
	lengua	Total	1	13	14
		% Localización	7,1%	92,9%	100,0%
		Residual	-5,9	5,9	
	mejilla	Total	5	17	22
		% Localización	22,7%	77,3%	100,0%
		Residual	-5,9	5,9	
Total		Total	37	38	75
		% Localización	49,3%	50,7%	100,0%

## 7.6. Árbol de Clasificación

Mediante el análisis de árbol de clasificación, se obtiene el mismo resultado que con Test exacto de Fisher, la variable, existen diferencias significativas al 95% ( $p < 0.001$ ) entre las localizaciones, observando que las localizaciones mejilla y lengua aumentan la presencia de HPV32 (de un 52.1% de la muestra general a un 85.7% en estas localizaciones), mientras que labio inferior y superior aumentan la presencia de HPV13 (de un 47.9% de la muestra general a un 78.9% en estas localizaciones).

Gráfica N° 11

Arbol de decisión: PVH 13 y PVH 32



## **8.- DISCUSIÓN**



La Hiperplasia Epitelial Focal aunque es una enfermedad muy rara en el medio es un diagnóstico que debemos conocer y tener en cuenta debido al gran número de inmigrantes que hay en España. Asimismo, es importante para el profesional tener el conocimiento de la epidemiología, etiología, características clínicas e histopatológicas, pronóstico y opciones de tratamiento, con el fin de realizar un óptimo manejo del caso.

En estudios realizados anteriormente, como los de Carlos y cols y Archard y cols, se observó una mayor incidencia de la enfermedad en el género femenino (16, 41). Este estudio de una serie de 47 casos concuerda con esta información, ya que 31 pacientes fueron mujeres y 16 hombres. Esto podría estar relacionado a las condiciones de vida de las mujeres en ciertos grupos étnicos y culturas, haría falta más estudios para encontrar el motivo de esta predilección por el género femenino.

En cuanto a la edad, varios autores afirman que es una enfermedad de la infancia, otros incluyen grupos etarios mayores (40), sin embargo, la mayoría menciona que es una condición que ocurre generalmente antes de la segunda década de vida (13, 29, 41, 69, 70). En este estudio se encontraron sujetos con una edad promedio de 19 años y un rango de edades que oscilaban entre 4 y 71 años. Esta información demuestra que la enfermedad no es exclusiva de la infancia ni de grupos etarios determinados y que la presencia de la misma puede ocurrir incluso en pacientes con más de 7 décadas de vida.

Con respecto a la localización, los resultados de este estudio apoyan investigaciones en las que se concluye que la mayor incidencia de las lesiones se encuentran en la mucosa del labio inferior (41, 55). En esta serie de 47 pacientes (76 muestras), la localización de labio inferior fue registrada en el 43% de las lesiones. Hasta la actualidad no se

encuentra una explicación a la susceptibilidad de esta zona frente a la enfermedad, sin embargo, podría ser atribuida a la mayor fricción que presenta en comparación a otras localizaciones.

Los hallazgos histopatológicos arrojaron resultados útiles para el diagnóstico de la enfermedad, el promedio de capas celulares fue 38.74, esto indica que el número de capas celulares aumenta en presencia de la enfermedad, ya que en estado de salud, no se encontraría un número de capas tan elevado. A pesar de esto, la mitosis encontrada fue poca y estuvo ubicada principalmente en el estrato espinoso. Además hubo 22 casos en los que no se pudo identificar la presencia de la misma. Siendo este hallazgo, no considerado determinante para la presencia de la enfermedad. Sin embargo, las figuras mitosoides fueron vistas en todos los casos excepto uno y se ubicaron principalmente en el estrato espinoso. Esta es una característica propia y común de la HEF, que ha sido descrita anteriormente por algunos autores (71, 72).

Dentro de la arquitectura de clavos epiteliales fueron los tipos puntiforme y ancho los que dominaron, mientras que solo 6 casos presentaron una arquitectura en red. Los cambios coilocíticos se presentaron en la mayoría de casos en el estrato espinoso, solo en un caso se encontraron estos cambios en el estrato basal y el 25.53% no presentó esta característica. Aparentemente la mayoría de alteraciones citológicas se dan a lugar en el estrato espinoso.

Por otro lado, la eosinofilia celular, la presencia de puentes intercelulares y la paraqueratinización fueron características que se encontraron en el 100% de los casos.

Algo parecido sucedió con la hiper celularidad, ya que se presentó en todos los casos excepto uno.

La superficie epitelial fue de forma condiloide y plana, ningún paciente presentó una superficie con predominio de forma papilomatosa. Este hallazgo se considera importante ya que al encontrar la presencia del mismo en conjunto con otras características poco comunes, podríamos empezar a pensar en otras posibilidades de diagnóstico

La reacción inflamatoria subepitelial fue observada a diferentes grados en todos los casos excepto uno, en el cual no se encontraron células inflamatorias en la zona.

En cuanto a la identificación y tipificación del VPH. El 47.9 % de localizaciones presentó VPH 13 y el 52.1% VPH 32. Siendo un resultado similar para ambos tipos de PVH. Estos resultados contrastan con los de algunos autores, quienes describieron que la etiología de la enfermedad se basaba principalmente en la presencia del VPH 13 (36, 37, 71). Y otros, que afirmaron su relación principal con el VPH 32 (4). Esta heterogeneidad de resultados encontrada en la literatura podría ser atribuida a la posible influencia genética que presenta esta condición (4). Por otro lado, podríamos tomar en cuenta también que estos estudios provienen de muestras muy pequeñas y en el presente estudio analizamos un total de 47 sujetos y 76 muestras.

Adicionalmente, sólo 4 de las 76 muestras fueron negativas al control interno de la  $\beta$  – globina, la cual es una proteína presente en la hemoglobina del ser humano y que debía ser positiva en todas los casos. Esto podría ser atribuido a la calidad de la concentración

de ácidos nucleicos, que si bien a partir de 5 ng/μL se considera óptima, se ha descrito también que en cantidades mayores a 200 ng/μL son capaces de inhibir el proceso de RCP. En el presente estudio, estas 4 muestras presentaban un rango de concentración que oscilaba entre 239.8 ng/μL y 417.6 ng/μL y sólo una de ellas no pudo identificar ninguno de los tipos de PVH.

Sin embargo, todas las muestras de apéndice seleccionadas como control negativo dieron el resultado esperado, comprobando la calidad de la prueba.

En cuanto a las localizaciones, existen diferencias significativas al 95% ( $p < 0.001$ ) en la presencia del tipo de HPV entre las localizaciones. En labio inferior hay una alta prevalencia (80.6%) de HPV13, mientras que en lengua y mejilla se observa una mayor presencia (92.9% y 81.0% respectivamente) de HPV32.

Estos hallazgos no han sido descritos anteriormente en la literatura. Sin embargo, podemos apreciar que existe una relación entre el tipo de PVH y la localización, creando tendencias del VPH 13 en el labio inferior y el VPH 32 en la lengua y mejilla.

Finalmente, todas estas características resaltantes de la enfermedad que han sido mencionadas anteriormente, son importantes para que el profesional llegue al diagnóstico correcto. Es por este motivo, que el criterio del Anatómo-Patólogo y la correcta información recogida por el clínico se considera esencial.

La relevancia data en que pocos estudios de este tipo se han realizado con anterioridad y ninguno con un número considerado de pacientes en los que además se realice

también la RCP para identificación y tipificación del VPH. Investigaciones futuras de este tipo en diferentes poblaciones aportarían información valiosa para la unificación de criterios.

## **9.- CONCLUSIONES**

1. Acorde con estudios previos en otras poblaciones, en este estudio se concluye que la Hiperplasia Epitelial Focal se presenta mayormente en sujetos que se encuentran entre la primera y segunda década de vida, de género femenino y con localización en el labio inferior.
2. El aumento de número de capas celulares y la hiper celularidad de crestas epiteliales fue una característica histopatológica común, sin embargo, la presencia de mitosis celular en los diferentes estratos fue muy rara. El epitelio se encuentra alterado y esto se manifiesta en los diferentes tipos de arquitectura que se presentan siendo la tipo puntiforme y ancha las más comunes.
3. Las células presentan algunas alteraciones muy características, estas se manifiestan en figuras mitosoides y cambios coilocíticos.
4. Existen hallazgos histopatológicos encontrados en el 100% de los casos: eosinofilia celular, presencia de puentes intercelulares y paraqueratinización.
5. Existe una posible relación entre el tipo de PVH y la localización, creando tendencias del VPH 13 en el labio inferior (80.6%) y el VPH 32 en la lengua y mejilla (92.9% y 81.0% respectivamente).

## **10.- BIBLIOGRAFÍA**



1. Saunders NR, Scolnik D, Rebbapragada A, Koelink E, Craw L, Roth S, et al. Focal epithelial hyperplasia caused by human papillomavirus 13. *Pediatr Infect Dis J*. 2010 Jun;29(6):550-2. PubMed PMID: 20508479. Epub 2010/05/29. eng.
2. Cuberos V, Perez J, Lopez CJ, Castro F, Gonzalez LV, Correa LA, et al. Molecular and serological evidence of the epidemiological association of HPV 13 with focal epithelial hyperplasia: a case-control study. *J Clin Virol*. 2006 Sep;37(1):21-6. PubMed PMID: 16793332. Epub 2006/06/24. eng.
3. Gonzalez LV, Gaviria AM, Sanclemente G, Rady P, Tyring SK, Carlos R, et al. Clinical, histopathological and virological findings in patients with focal epithelial hyperplasia from Colombia. *Int J Dermatol*. 2005 Apr;44(4):274-9. PubMed PMID: 15811076. Epub 2005/04/07. eng.
4. Garcia-Corona C, Vega-Memije E, Mosqueda-Taylor A, Yamamoto-Furusho JK, Rodriguez-Carreón AA, Ruiz-Morales JA, et al. Association of HLA-DR4 (DRB1\*0404) with human papillomavirus infection in patients with focal epithelial hyperplasia. *Arch Dermatol*. 2004 Oct;140(10):1227-31. PubMed PMID: 15492185. Epub 2004/10/20. eng.
5. Premoli-de-Percoco G, Galindo I, Ramirez JL. In situ hybridization with digoxigenin-labelled DNA probes for the detection of human papillomavirus-induced focal epithelial hyperplasia among Venezuelans. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol*. 1992;420(4):295-300. PubMed PMID: 1314447. Epub 1992/01/01. eng.
6. Hall C, McCullough M, Angel C, Manton D. Multifocal epithelial hyperplasia: a case report of a family of Somalian descent living in Australia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2010 Jan;109(1):e20-4. PubMed PMID: 20123364. Epub 2010/02/04. eng.
7. Mosannen-Mozaffari P, Falaki F, Amirchaghmaghi M, Pakfetrat A, Dalirsani Z, Saghafi-Khadem S. Multifocal epithelial hyperplasia, a rare oral infection in Asia:

report of twelve cases in Iran. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2009 Jul;15(4):e591-5. PubMed PMID: 20038890. Epub 2009/12/30. eng.

8. Falaki F, Amir Chaghmaghi M, Pakfetrat A, Delavarian Z, Mozaffari PM, Pazooki N. Detection of human papilloma virus DNA in seven cases of focal epithelial hyperplasia in Iran. *J Oral Pathol Med*. 2009 Nov;38(10):773-6. PubMed PMID: 19453844. Epub 2009/05/21. eng.

9. Ledesma-Montes C, Vega-Memije E, Garces-Ortiz M, Cardiel-Nieves M, Juarez-Luna C. Multifocal epithelial hyperplasia. Report of nine cases. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2005 Nov-Dec;10(5):394-401. PubMed PMID: 16264387. Epub 2005/11/03. eng spa.

10. van Wyk W, Harris A. Focal epithelial hyperplasia: a survey of two isolated communities in the Cape Province of South Africa. *Community Dent Oral Epidemiol*. 1987 Jun;15(3):161-3. PubMed PMID: 3474101. Epub 1987/06/01. eng.

11. Pilgard G. Focal epithelial hyperplasia. Report of nine cases from Sweden and review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1984 May;57(5):540-3. PubMed PMID: 6587302. Epub 1984/05/01. eng.

12. Fischman SL. Focal epithelial hyperplasia. Case reports from Paraguay and Peru. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1969 Sep;28(3):389-93. PubMed PMID: 5257183. Epub 1969/09/01. eng.

13. Witkop CJ, Jr., Niswander JD. FOCAL EPITHELIAL HYPERPLASIA IN CENTRAL AND SOUTH AMERICAN INDIANS AND LADINOS. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1965 Aug;20:213-7. PubMed PMID: 14319596. Epub 1965/08/01. eng.

14. Ruiz R, Silva GR, Menchaca HR. Focal epithelial hyperplasia. *Lancet (London, England)*. 2014 Jul 12;384(9938):173. PubMed PMID: 24269109. Epub 2013/11/26. Eng.

15. de Castro LA, de Castro JG, da Cruz AD, Barbosa BH, de Spindula-Filho JV, Costa MB. Focal Epithelial Hyperplasia (Heck's Disease) in a 57-Year-Old Brazilian Patient: A Case Report and Literature Review. *Journal of clinical medicine research*. 2016 Apr;8(4):346-50. PubMed PMID: 26985258. Pubmed Central PMCID: PMC4780501. Epub 2016/03/18. Eng.
16. Archard HO, Heck JW, Stanley HR. FOCAL EPITHELIAL HYPERPLASIA: AN UNUSUAL ORAL MUCOSAL LESION FOUND IN INDIAN CHILDREN. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1965 Aug;20:201-12. PubMed PMID: 14322615. Epub 1965/08/01. eng.
17. Hettwer KJ, Rodgers MS. Focal epithelial hyperplasia (Heck's disease) in a Polynesian. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1966 Oct;22(4):466-70. PubMed PMID: 5222626. Epub 1966/10/01. eng.
18. Phillips H, Williams A. Focal epithelial hyperplasia. Report of a case. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1968 Nov;26(5):619-22. PubMed PMID: 5245681. Epub 1968/11/01. eng.
19. Waldman GH, Shelton DW. Focal epithelial hyperplasia (Heck's disease) in an adult Caucasian. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1968 Jul;26(1):124-7. PubMed PMID: 5241348. Epub 1968/07/01. eng.
20. Decker WG, De Guzman MN. Focal epithelial hyperplasia. Report of four cases in Mestizos from Cochabamba, Boliva. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1969 Jan;27(1):15-9. PubMed PMID: 5248725. Epub 1969/01/01. eng.
21. Gomez A, Calle C, Arcila G, Pindborg JJ. Focal epithelial hyperplasia in a half-breed family of Colombians. *J Am Dent Assoc*. 1969 Sep;79(3):663-7. PubMed PMID: 5256372. Epub 1969/09/01. eng.
22. Tan KN, Medak H, Cohen L, Burlakow P. Focal epithelial hyperplasia in a Mexican Indian. *Arch Dermatol*. 1969 Oct;100(4):474-7. PubMed PMID: 4311550. Epub 1969/10/01. eng.

23. Hollander CF, van Noord MJ. Focal epithelial hyperplasia: a virus-induced oral mucosal lesion in the chimpanzee. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1972 Feb;33(2):220-6. PubMed PMID: 4500596. Epub 1972/02/01. eng.
24. Tate CL, Conti PA, Nero EP. Focal epithelial hyperplasia in the oral mucosa of a chimpanzee. *J Am Vet Med Assoc.* 1973 Sep 15;163(6):619-21. PubMed PMID: 4742089. Epub 1973/09/15. eng.
25. Van Ranst M, Fuse A, Sobis H, De Meurichy W, Syrjanen SM, Billiau A, et al. A papillomavirus related to HPV type 13 in oral focal epithelial hyperplasia in the pygmy chimpanzee. *J Oral Pathol Med.* 1991 Aug;20(7):325-31. PubMed PMID: 1654423. Epub 1991/08/01. eng.
26. Sa LR, DiLoreto C, Leite MC, Wakamatsu A, Santos RT, Catao-Dias JL. Oral focal epithelial hyperplasia in a howler monkey (*Alouatta fusca*). *Vet Pathol.* 2000 Sep;37(5):492-6. PubMed PMID: 11055880. Epub 2000/10/31. eng.
27. Chen SY. Focal epithelial hyperplasia in rabbit oral mucosa. *J Oral Pathol.* 1979 Aug;8(4):213-23. PubMed PMID: 115979. Epub 1979/08/01. eng.
28. Villanueva Alvarez-Santullano CA, Hernandez-Nunez A, Castano A, Minano Medrano R, Cordoba Guijarro S, Borbujo Martinez J. [Multifocal epithelial hyperplasia: a familial case.]. *An Pediatr (Barc).* 2010 Dec;73(6):357-60. PubMed PMID: 20833119. Epub 2010/09/14. Hiperplasia epitelial multifocal: un caso familiar. Spa.
29. Wheat CM, Bickley RJ, Cohen BA. Pediatric Dermatology Photoquiz: Multiple Papules on the Mucosal Surfaces of a 17-Year-Old Boy. Focal epithelial hyperplasia (Heck's disease). *Pediatr Dermatol.* 2016 Jan-Feb;33(1):91-2. PubMed PMID: 26758095. Epub 2016/01/14. Eng.
30. Syrjanen S. Human papillomavirus infections and oral tumors. *Med Microbiol Immunol.* 2003 Aug;192(3):123-8. PubMed PMID: 12920585. Epub 2003/08/16. eng.

31. Prabhu SR, Wilson DF. Human papillomavirus and oral disease - emerging evidence: a review. *Aust Dent J.* 2013 Mar;58(1):2-10; quiz 125. PubMed PMID: 23441786. Epub 2013/02/28. Eng.
32. Praetorius-Clausen F, Willis JM. Papova virus-like particles in focal epithelial hyperplasia. *Scand J Dent Res.* 1971;79(5):362-5. PubMed PMID: 4331014. Epub 1971/01/01. eng.
33. Hanks CT, Fischman SL, Nino de Guzman M. Focal epithelial hyperplasia. A light and electron microscopic study of one case. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1972 Jun;33(6):934-43. PubMed PMID: 4503460. Epub 1972/06/01. eng.
34. Kuffer R, Perol Y. [Focal epithelial hyperplasia. 1st French case. Demonstration of a papovavirus by electron microscopy]. *Rev Stomatol Chir Maxillofac.* 1976 Mar;77(2):318-21. PubMed PMID: 1066741. Epub 1976/03/01. Hyperplasie epitheliale focale. Premier cas francais. Mise en evidence d'un virus papova en microscopie electronique. fre.
35. Kuhlwein A, Nasemann T, Janner M, Schaeg G, Reinel D. [Detection of papilloma virus in Heck's focal epithelial hyperplasia and the differential diagnosis of white-sponge nevus]. *Hautarzt.* 1981 Dec;32(12):617-21. PubMed PMID: 6274826. Epub 1981/12/01. Nachweis von Papillomviren bei fokaler epithelialer Hyperplasie Heck und die Differentialdiagnose zum weissen Schleimhautnavus. ger.
36. Pfister H, Hettich I, Runne U, Gissmann L, Chalf GN. Characterization of human papillomavirus type 13 from focal epithelial hyperplasia Heck lesions. *J Virol.* 1983 Aug;47(2):363-6. PubMed PMID: 6312071. Epub 1983/08/01. eng.
37. Beaudenon S, Praetorius F, Kremsdorf D, Lutzner M, Worsaae N, Pehau-Arnaudet G, et al. A new type of human papillomavirus associated with oral focal epithelial hyperplasia. *J Invest Dermatol.* 1987 Feb;88(2):130-5. PubMed PMID: 3027189. Epub 1987/02/01. eng.

38. Syrjanen SM, Syrjanen KJ, Happonen RP, Lamberg MA. In situ DNA hybridization analysis of human papillomavirus (HPV) sequences in benign oral mucosal lesions. *Arch Dermatol Res.* 1987;279(8):543-9. PubMed PMID: 2829754. Epub 1987/01/01. eng.
39. Petzoldt D, Pfister H. HPV 1 DNA in lesions of focal epithelial hyperplasia Heck. *Arch Dermatol Res.* 1980;268(3):313-4. PubMed PMID: 6260042. Epub 1980/01/01. eng.
40. Shamloo N, Mortazavi H, Taghavi N, Baharvand M. Multifocal epithelial hyperplasia: a forgotten condition in the elderly. *Gen Dent.* 2016 Sep-Oct;64(5):72-4. PubMed PMID: 27599286. Epub 2016/09/07. Eng.
41. Carlos R, Sedano HO. Multifocal papilloma virus epithelial hyperplasia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1994 Jun;77(6):631-5. PubMed PMID: 8065729. Epub 1994/06/01. eng.
42. Khanal S, Cole ET, Joh J, Ghim SJ, Jenson AB, Rai SN, et al. Human papillomavirus detection in histologic samples of multifocal epithelial hyperplasia: a novel demographic presentation. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology.* 2015 Dec;120(6):733-43. PubMed PMID: 26455288. Epub 2015/10/13. Eng.
43. Premoli-De-Percoco G, Cisternas JP, Ramirez JL, Galindo I. Focal epithelial hyperplasia: human-papillomavirus-induced disease with a genetic predisposition in a Venezuelan family. *Hum Genet.* 1993 May;91(4):386-8. PubMed PMID: 8388851. Epub 1993/05/01. eng.
44. Ledesma-Montes C, Garces-Ortiz M, Hernandez-Guerrero JC. Clinicopathological and immunocytochemical study of multifocal epithelial hyperplasia. *J Oral Maxillofac Surg.* 2007 Nov;65(11):2211-7. PubMed PMID: 17954316. Epub 2007/10/24. eng.
45. Park MW, Cho YA, Kim SM, Myoung H, Lee JH, Lee SK. Focal epithelial hyperplasia arising after delivery of metal-ceramic fixed dental prosthesis. *The journal*

of advanced prosthodontics. 2014 Dec;6(6):555-8. PubMed PMID: 25558348. Pubmed Central PMCID: PMC4279056. Epub 2015/01/06. Eng.

46. Feller L, Khammissa RA, Wood NH, Malema V, Meyerov R, Lemmer J. Focal epithelial hyperplasia (Heck disease) related to highly active antiretroviral therapy in an HIV-seropositive child. A report of a case, and a review of the literature. SADJ. 2010 May;65(4):172-5. PubMed PMID: 20632701. Epub 2010/07/17. eng.

47. Marvan E, Firth N. Focal epithelial hyperplasia in an HIV positive man. An illustrated case and review of the literature. Aust Dent J. 1998 Oct;43(5):305-10. PubMed PMID: 9848979. Epub 1998/12/16. eng.

48. Patterson AT, Andritsos L, Allen CM, Gru A, Kaffenberger BH. Multifocal epithelial hyperplasia (Heck disease) in a patient with chronic lymphocytic leukemia. J Cutan Pathol. 2014 Aug;41(8):694-6. PubMed PMID: 24754486. Epub 2014/04/24. Eng.

49. Praetorius-Clausen F, Emmertsen M. Occurrence of focal epithelial hyperplasia among Amerindians in Ecuador. Int J Oral Surg. 1973;2(2):45-53. PubMed PMID: 4203649. Epub 1973/01/01. eng.

50. Sawyer DR, Arole G, Mosadomi A. Focal epithelial hyperplasia. Report of three cases from Nigeria, West Africa. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1983 Aug;56(2):1859. PubMed PMID: 6578481. Epub 1983/08/01. eng.

51. Ficarra G, Adler-Storthz K, Galeotti F, Shillitoe E. Focal epithelial hyperplasia (Heck's disease): the first reported case from Italy. Tumori. 1991 Feb 28;77(1):83-5. PubMed PMID: 1850180. Epub 1991/02/28. eng.

52. Schock RK. Familial focal epithelial hyperplasia. Report of a case. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1969 Oct;28(4):598-602. PubMed PMID: 5259042. Epub 1969/10/01. eng.

53. Clausen FP, Russell B. [Focal epithelial hyperplasia. A case in an East Greenlandic girl]. Tandlaegebladet. 1970 Apr;74(4):423-9. PubMed PMID: 5270935. Epub 1970/04/01. Fokal epitelial hyperplasi. Et tilfoelde hos en ostgronlandsk pige. dan.
54. Nartey NO, Newman MA, Nyako EA. Focal epithelial hyperplasia: report of six cases from Ghana, West Africa. J Clin Pediatr Dent. 2002 Fall;27(1):63-6. PubMed PMID: 12413174. Epub 2002/11/05. eng.
55. Terezhalmay GT, Riley CK, Moore WS. Focal epithelial hyperplasia (Heck's disease). Quintessence Int. 2001 Sep;32(8):664-5. PubMed PMID: 11526896. Epub 2001/08/31. eng.
56. Hashemipour MA, Shoryabi A, Adhami S, Mehrabizadeh Honarmand H. Extensive focal epithelial hyperplasia. Arch Iran Med. 2009 Jan;13(1):48-52. PubMed PMID: 20039770. Epub 2009/12/31. eng.
57. Bennett LK, Hinshaw M. Heck's disease: diagnosis and susceptibility. Pediatr Dermatol. 2009 Jan-Feb;26(1):87-9. PubMed PMID: 19250415. Epub 2009/03/03. eng.
58. Praetorius-Clausen F. Rare oral viral disorders (molluscum contagiosum, localized keratoacanthoma, verrucae, condyloma acuminatum, and focal epithelial hyperplasia). Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1972 Oct;34(4):604-18. PubMed PMID: 4562543. Epub 1972/10/01. eng.
59. Kutcher MJ, Padilla R, Ludlow JB. Asymptomatic pebbly lesions. J Am Dent Assoc. 2009 Feb;140(2):185-8. PubMed PMID: 19188415. Epub 2009/02/04. eng.
60. Bombeccari GP, Guzzi GP, Pallotti F, Spadari F. Focal epithelial hyperplasia: polymerase chain reaction amplification as a differential diagnosis tool. Am J Dermatopathol. 2009 Feb;31(1):98-100. PubMed PMID: 19155739. Epub 2009/01/22. eng.
61. Segura-Saint-Gerons R, Toro-Rojas M, Ceballos-Salobrena A, Aparicio-Soria JL, Fuentes-Vaamonde H. Focal epithelial hyperplasia. A rare disease in our area. Med Oral



Patol Oral Cir Bucal. 2005 Mar-Apr;10(2):128-31. PubMed PMID: 15735545. Epub 2005/03/01. eng.

62. Martins WD, de Lima AA, Vieira S. Focal epithelial hyperplasia (Heck's disease): report of a case in a girl of Brazilian Indian descent. *Int J Paediatr Dent*. 2006 Jan;16(1):65-8. PubMed PMID: 16364096. Epub 2005/12/21. eng.

63. dos Santos-Pinto L, Giro EM, Pansani CA, Ferrari J, Massucato EM, Spolidorio LC. An uncommon focal epithelial hyperplasia manifestation. *J Dent Child (Chic)*. 2009 Sep-Dec;76(3):233-6. PubMed PMID: 19941767. Epub 2009/11/28. eng.

64. Steinhoff M, Metze D, Stockfleth E, Luger TA. Successful topical treatment of focal epithelial hyperplasia (Heck's disease) with interferon-beta. *Br J Dermatol*. 2001 May;144(5):1067-9. PubMed PMID: 11359400. Epub 2001/05/22. eng.

65. Akyol A, Anadolu R, Anadolu Y, Ekmekci P, Gurgey E, Akay N. Multifocal papillomavirus epithelial hyperplasia: successful treatment with CO2 laser therapy combined with interferon alpha-2b. *Int J Dermatol*. 2003 Sep;42(9):733-5. PubMed PMID: 12956692. Epub 2003/09/06. eng.

66. Luomanen M. Oral focal epithelial hyperplasia removed with CO2 laser. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 1990 Aug;19(4):205-7. PubMed PMID: 2170540. Epub 1990/08/01. eng.

67. Kose O, Akar A, Safali M, Tastan HB, Kurumlu Z, Gur AR. Focal epithelial hyperplasia treated with interferon alpha-2a. *J Dermatolog Treat*. 2001 Jun;12(2):111-3. PubMed PMID: 12243669. Epub 2002/09/24. eng.

68. Bascones-Martinez A, Cok S, Bascones-Ilundain C, Arias-Herrera S, Gomez-Font R, Bascones-Ilundain J. Multifocal epithelial hyperplasia: A potentially precancerous disease? (Review). *Oncology letters*. 2012 Feb;3(2):255-8. PubMed PMID: 22740890. Pubmed Central PMCID: PMC3362355. Epub 2012/06/29. Eng.

69. Praetorius-Clausen F. Geographical aspects of oral focal epithelial hyperplasia. *Pathol Microbiol (Basel)*. 1973;39(3):204-13. PubMed PMID: 4718559. Epub 1973/01/01. eng.
70. Michael EJ, Husain S, Zalar G, Nuovo G. Focal epithelial hyperplasia in an Ecuadorian girl. *Cutis*. 1999 Dec;64(6):395-6. PubMed PMID: 10626102. Epub 2000/01/08. eng.
71. Liu N, Li Y, Zhou Y, Zeng X. Focal epithelial hyperplasia (Heck's disease) in two Chinese females. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2012 Aug;41(8):1001-4. PubMed PMID: 22154527. Epub 2011/12/14. Eng.
72. Prabhat MP, Raja Lakshmi C, Sai Madhavi N, Bhavana SM, Sarat G, Ramamohan K. Multifocal Epithelial Hyperplasia of Oral Cavity Expressing HPV 16 Gene: A Rare Entity. *Case reports in dentistry*. 2013;2013:871306. PubMed PMID: 24455323. Pubmed Central PMCID: PMC3884697. Epub 2014/01/24. Eng.

## **11.- ANEXOS**

**Anexo 1:** Tabla de datos de Pacientes con diagnóstico de HEF en la Clínica Peruana Cayetano Heredia.

**Anexo 2:** Tabla de hallazgos histopatológicos en muestras de pacientes con diagnóstico de Hiperplasia Epitelial Focal.

**Anexo 3:** Tabla de tipificación de Virus de Papiloma Humano con RCP.

**ANEXO 1: HIPERPLASIA EPITELIAL FOCAL. TABLA DE DATOS.**  
**Pacientes de la Clínica Peruana Cayetano Heredia. 1991 - Julio 2010.**

**1991**

<b>CÓDIGO</b>	<b>APELLIDOS, NOMBRES</b>	<b>EDAD</b>	<b>SEXO</b>	<b>FECHA</b>	<b>LOCALIZACIÓN</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
1	Tejada Rodríguez, Tamy	7	F	24/09	a. mejilla b. labio inf c. lengua	

**1993**

<b>CÓDIGO</b>	<b>APELLIDOS, NOMBRES</b>	<b>EDAD</b>	<b>SEXO</b>	<b>FECHA</b>	<b>LOCALIZACIÓN</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
2	Paz Changanahui, Roberto	8	M	08/03	labio superior	

**1996**

<b>CÓDIGO</b>	<b>APELLIDOS, NOMBRES</b>	<b>EDAD</b>	<b>SEXO</b>	<b>FECHA</b>	<b>LOCALIZACIÓN</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
3	Sánchez Pantajo, Pamela	8	F	14/02	mejilla	
4	Pulache Quispe, Luz Kelly	13	F	11/03	a. mejilla b. labio inferior c. labio superior	

**1997**

<b>CÓDIGO</b>	<b>APELLIDOS, NOMBRES</b>	<b>EDAD</b>	<b>SEXO</b>	<b>FECHA</b>	<b>LOCALIZACIÓN</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
5	Burga de Mendiola, Norma	10	F	10/09	labio inferior	

**2000**

<b>CÓDIGO</b>	<b>APELLIDOS, NOMBRES</b>	<b>EDAD</b>	<b>SEXO</b>	<b>FECHA</b>	<b>LOCALIZACIÓN</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
6	Canaza Mamani, Jimmy P	10	M	23/06	labio inferior	
7	Inés Huahuamni	12	F	14/03	labio inferior	
8	Mamani Condori, Carmen	10	F	29/03	labio inferior	te: 4 meses
9	Palomino Elias, Tulio	30	M	27/09	lengua	te: 1 año y medio
10	Pari Inga, Víctor Manuel	10	M	11/10	a. labio inferior b. lengua c. mejilla	

**2001**

<b>CÓDIGO</b>	<b>APELLIDOS, NOMBRES</b>	<b>EDAD</b>	<b>SEXO</b>	<b>FECHA</b>	<b>LOCALIZACIÓN</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
11	García Gago, Michel	10	F	23/08	mejilla	
12	Marcelo Vilchez, Jazmin	4	F	23/11	a. labio inferior b. lengua c. mejilla	

**2002**

<b>CÓDIGO</b>	<b>APELLIDOS, NOMBRES</b>	<b>EDAD</b>	<b>SEXO</b>	<b>FECHA</b>	<b>LOCALIZACIÓN</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
13	Paico Fajardo, Indira	13	F	11/01	mejilla	
14	Estrada Vitorino, Carolina	16	F	18/01	a. mejilla b. lengua	
15	Vives Meneses, Verónica	16	F	08/03	mejilla	
16	Márquez Ortega, Catherine	9	F	11/06	a. lengua b. labio inferior	

**2003**

<b>CÓDIGO</b>	<b>APELLIDOS, NOMBRES</b>	<b>EDAD</b>	<b>SEXO</b>	<b>FECHA</b>	<b>LOCALIZACIÓN</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
17	Muñoz Quentos, Mara Nelly	5	F	14/04	lengua	
18	Matías Vasquez, Katherine	11	F	25/04	labio inferior	
19	Marquez Contreras, Humberto	71	M	10/07	a. lengua b. labio inf.	
20	Piña Caballero, Yolanda	17	F	11/07	labio inferior	

**2004**

<b>CÓDIGO</b>	<b>APELLIDOS, NOMBRES</b>	<b>EDAD</b>	<b>SEXO</b>	<b>FECHA</b>	<b>LOCALIZACIÓN</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
21	Echevarría Bernales, Rita	37	F	28/12	a. labio inferior. b. lengua	

**2005**

<b>CÓDIGO</b>	<b>APELLIDOS, NOMBRES</b>	<b>EDAD</b>	<b>SEXO</b>	<b>FECHA</b>	<b>LOCALIZACIÓN</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
22	Nizama Bances, Rosa	32	F	22/01	a. lengua b. labio inf c. labio sup d. mejilla	te: 1 año
23	Pinedo Fasamando, Katherine	11	F	19/05	labio inferior	te: 1 año
24	Santiesteban Torres, Margarita	8	F	29/08	labio inferior	
25	Cora Ruiz, Rosmery	11	F	08/08	labio superior	

**2006**

<b>CÓDIGO</b>	<b>APELLIDOS, NOMBRES</b>	<b>EDAD</b>	<b>SEXO</b>	<b>FECHA</b>	<b>LOCALIZACIÓN</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
26	Flores Martínez, Alicia	51	F	04/01	lengua	
27	Gallegos Chirana, Erick	14	M	28/04	a. labio inf b. labio sup c. mejilla d. lengua	
28	Menchola Zavaleta, Delia	70	F	25/09	a. labio inf b. lengua	

**2007**

<b>CÓDIGO</b>	<b>APELLIDOS, NOMBRES</b>	<b>EDAD</b>	<b>SEXO</b>	<b>FECHA</b>	<b>LOCALIZACIÓN</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
29	Blas Vega, Francisco	50	M	10/01	a. labio inf b. mejilla	
30	Retuerto Jimenez, Kristy	11	F	18/01	a. labio inf b. labio sup c. mejillas	Se repite el 2008
31	Neyra Chacaliana, Luis G.	11	M	08/02	a. labio inf b. mejilla	
32	Revilla Revilla, Julio	19	M	09/03	a. labio inf b. mejilla	
33	Samagen Page, Ruth	11	F	14/06	a. labio inf b. labio sup c. mejilla d. lengua	
34	Cachanya Yaro, Evelyn	9	F	29/10	Labio inferior	
35	Chuan Moncada, Carlos	5	M	19/11	a. mejilla b. labio superior	

**2008**

<b>CÓDIGO</b>	<b>APELLIDOS, NOMBRES</b>	<b>EDAD</b>	<b>SEXO</b>	<b>FECHA</b>	<b>LOCALIZACIÓN</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
36	Retuerto Jiménez, Kristy	13	F	11/03	Labio inferior	
37	Carranza Castro, Fiorella	10	F	02/09	mejilla	
38	Delgado Cárdenas, Sandra	13	F	13/10	Labio inferior	
39	Chafloque BendeZú, Ricardo	55	M	22/10	Labio inferior	

**2009**

<b>CÓDIGO</b>	<b>APELLIDOS, NOMBRES</b>	<b>EDAD</b>	<b>SEXO</b>	<b>FECHA</b>	<b>LOCALIZACIÓN</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
40	Díaz Infanta, Dana	8	F	09/01	a. labio inf b. mejilla	
41	Zúñiga Chiclayo, José	36	M	30/01	labio inferior	
42	Sánchez Medina, Juan D.	12	M	18/02	mejilla	
43	Aponte Villega, Lucero	11	F	17/02	labio inferior	
44	Benez Chamaga, Aldo	45	M	12/06	labio inferior	
45	Olaya Hernández, Junior	6	M	16/07	labio inferior	

**2010**

<b>CÓDIGO</b>	<b>APELLIDOS, NOMBRES</b>	<b>EDAD</b>	<b>SEXO</b>	<b>FECHA</b>	<b>LOCALIZACIÓN</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
46	Fernández Sánchez, Nilda	37	F	18/03	mejilla	
47	Flores Gamarra, Juan	15	M	13/08	mejilla	



## **ANEXO 2: HIPERPLASIA EPITELIAL FOCAL. HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS.**

CÓDIGO	N. CAPAS CELULARES	ARQUITECTURA CLAVOS EPITELIALES			MITOSIS			FIGURAS MITOSOIDES			CAMBIOS COILOCÍTICOS			EOSINOFILIA CELULAR	PUENTES INTERCELULARES	PARAQUERATINIZACIÓN	HIPERCELULARIDAD CRESTAS EPITELIALES	SUPERFICIE EPITELIAL			REACCIÓN INFLAMATORIA SUBEPITELIAL
		R	P	A	B	E	S	B	E	S	B	E	S					PA	C	PL	
1	42			X				X	X					X	X	X	X		X		X
2	40		X	X		X		X			X			X	X	X	X		X		X
3	41		X	X				X			X			X	X	X	X			X	X
4	38	X						X						X	X	X	X			X	X
5	40		X	X				X			X			X	X	X	X		X		X
6	35	X	X	X		X		X			X			X	X	X	X		X		X
7	38	X		X	X			X			X			X	X	X	X		X		X
8	43		X	X	X			X			X			X	X	X	X			X	X
9	39	X	X	X				X			X			X	X	X	X		X		X
10	36	X	X					X			X			X	X	X	X			X	X
11	38		X	X				X						X	X	X	X			X	X
12	35		X	X		X		X			X			X	X	X	X			X	X
13	39		X	X				X						X	X	X	X			X	X
14	41		X	X				X						X	X	X	X			X	X
15	41		X	X		X		X						X	X	X	X			X	X
16	34		X	X				X			X			X	X	X	X			X	X
17	35	X						X						X	X	X	X		X		X
18	32		X	X				X			X			X	X	X	X		X		X
19	40		X	X				X			X			X	X	X	X			X	X
20	42		X	X		X		X			X			X	X	X	X		X		X
21	41		X	X		X		X			X			X	X	X	X			X	X
22	39			X				X			X			X	X	X	X		X		X
23	38		X	X		X		X			X			X	X	X	X		X		X
24	39		X	X				X						X	X	X	X			X	X

25	41		X	X				X			X		X	X	X			X	
26	43		X					X			X		X	X	X	X	X		X
27	40		X					X					X	X	X	X		X	X
28	39			X				X	X				X	X	X	X		X	X
29	38		X					X			X		X	X	X	X		X	X
30	40			X	X			X			X		X	X	X	X		X	X
31	42		X		X			X			X		X	X	X	X		X	X
32	41		X	X	X			X			X		X	X	X	X		X	X
33	39			X	X			X			X		X	X	X	X		X	X
34	37		X	X	X			X			X		X	X	X	X		X	X
35	40		X	X	X			X			X		X	X	X	X		X	X
36	34			X	X			X			X		X	X	X	X		X	X
37	38		X	X	X			X					X	X	X	X		X	X
38	39			X				X					X	X	X	X		X	X
39	41		X		X								X	X	X	X		X	X
40	35		X	X	X			X			X		X	X	X	X		X	X
41	37			X				X			X		X	X	X	X		X	X
42	40		X	X	X			X			X		X	X	X	X		X	X
43	41		X		X			X			X		X	X	X	X		X	X
44	39		X		X			X			X		X	X	X	X		X	X
45	39			X	X			X			X		X	X	X	X		X	X
46	35		X	X	X			X			X		X	X	X	X		X	X
47	37			X	X			X			X		X	X	X	X		X	X

R= RED P= PUNTIFORME A= ANCHO B= BASAL E= ESPINOSA  
S=SUPERFICIAL PA= PAPILOMATOSA C= CONDILOIDE  
PL= PLANA

### **ANEXO 3: TIPIFICACIÓN DEL VIRUS DE PAPILOMA HUMANO CON RCP**

<b>Código</b>	<b>Año</b>	<b>Localización</b>	<b>Acid nucléic [ ]</b>	<b>β -globina</b>	<b>HPV13</b>	<b>HPV32</b>
<b>1a</b>	1991	mejilla	127,7	1	0	1
<b>1b</b>	1991	labio inferior	92,9	1	1	0
<b>1c</b>	1991	lengua	56,3	1	0	1
<b>2</b>	1993	labio superior	36,9	1	1	0
<b>3</b>	1996	mejilla	68,2	1	0	1
<b>4a</b>	1996	mejilla	61,1	1	0	1
<b>4b</b>	1996	labio inferior	153,6	1	1	0
<b>4c</b>	1996	labio superior	102,3	1	1	0
<b>5</b>	1997	labio inferior	263	1	1	0
<b>6</b>	2000	labio inferior	97,2	1	0	0
<b>7</b>	2000	labio inferior	228	1	1	0
<b>8</b>	2000	labio inferior	108	1	1	0
<b>9</b>	2000	lengua	182,2	1	0	1
<b>10a</b>	2000	labio inferior	48,5	1	0	1
<b>10b</b>	2000	lengua	102,3	1	0	1
<b>10c</b>	2000	mejilla	142,3	1	0	1
<b>11</b>	2001	mejilla	154,5	1	1	0
<b>12a</b>	2001	labio inferior	101	1	1	0
<b>12b</b>	2001	lengua	96	1	0	1
<b>12c</b>	2001	mejilla	96,1	1	0	1
<b>13</b>	2002	mejilla	99	1	0	1
<b>14a</b>	2002	mejilla	28	1	1	0
<b>14b</b>	2002	lengua	87,9	1	0	1
<b>15</b>	2002	mejilla	132,9	1	0	1
<b>16a</b>	2002	lengua	12,5	1	1	0
<b>16b</b>	2002	labio inferior	251,8	0	1	0

<b>17</b>	2003	lengua	173,6	1	0	1
<b>18</b>	2003	labio inferior	167,9	1	1	0
<b>19a</b>	2003	lengua	28,6	1	0	1
<b>19b</b>	2003	labio inferior	129,2	1	1	0
<b>20</b>	2003	labio inferior	96,8	1	1	0
<b>21a</b>	2004	labio inferior	4,8	1	1	0
<b>21b</b>	2004	lengua	96,7	1	0	1
<b>22a</b>	2005	lengua	8,3	1	0	1
<b>22b</b>	2005	labio inferior	122,1	1	0	1
<b>22c</b>	2005	labio superior	120,2	1	0	1
<b>22d</b>	2005	mejilla	170,1	1	0	1
<b>23</b>	2005	labio inferior	186,9	1	1	0
<b>24</b>	2005	labio inferior	117,9	1	1	0
<b>25</b>	2005	labio inferior	116,3	1	0	0
<b>26</b>	2006	lengua	75,3	1	0	1
<b>27a</b>	2006	labio inferior	89,7	1	1	0
<b>27b</b>	2006	labio superior	98,2	1	0	1
<b>27c</b>	2006	mejilla	97,2	1	0	1
<b>27d</b>	2006	lengua	98,3	1	0	1
<b>28a</b>	2006	labio inferior	173,4	1	1	0
<b>28b</b>	2006	lengua	136,4	1	0	1
<b>29a</b>	2007	labio inferior	69	1	0	1
<b>29b</b>	2007	mejilla	337,1	0	0	0
<b>30a</b>	2007	labio inferior	185	1	1	0
<b>30b</b>	2007	labio superior	122,2	1	1	0
<b>30c</b>	2007	mejilla	82,2	1	0	1
<b>31a</b>	2007	labio inferior	80,5	1	1	0
<b>31b</b>	2007	mejilla	98,1	1	0	1

<b>32a</b>	2007	labio inferior	113	1	1	0
<b>32b</b>	2007	mejilla	114	1	0	1
<b>33a</b>	2007	labio inferior	113,5	1	1	0
<b>33b</b>	2007	labio superior	78,2	1	1	0
<b>33c</b>	2007	mejilla	89,2	1	0	1
<b>33d</b>	2007	lengua	98,2	1	0	1
<b>34</b>	2007	labio inferior	50,3	1	1	0
<b>35a</b>	2007	mejilla	68,8	1	1	0
<b>35b</b>	2007	labio superior	82,3	1	1	0
<b>36</b>	2008	labio inferior	55,8	1	1	0
<b>37</b>	2008	mejilla	84,8	1	0	1
<b>38</b>	2008	labio inferior	4,7	1	1	0
<b>39</b>	2008	labio inferior	11,7	1	0	1
<b>40a</b>	2009	labio inferior	239,8	0	0	1
<b>40b</b>	2009	mejilla	417,6	0	0	1
<b>41</b>	2009	labio inferior	262,4	1	1	0
<b>42</b>	2009	mejilla	128	1	1	0
<b>43</b>	2009	labio inferior	95,6	1	1	0
<b>44</b>	2009	labio inferior	123,5	1	0	1
<b>45</b>	2009	labio inferior	72,4	1	1	0
<b>46</b>	2010	mejilla	116,5	1	0	1
<b>47</b>	2010	mejilla	44,4	1	0	1

## **12.- RESUMEN EN INGLÉS**



## **12.1 TITLE OF THE THESIS**

CLINICAL, EPIDEMIOLOGICAL AND HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS, AND IDENTIFICATION AND TYPIIFICATION OF HUMAN PAPILOMA VIRUSES IN FOCAL EPITHELIAL HYPERPLASIA: A SERIES OF 47 CASES.

## **12.2. INTRODUCTION**

Focal epithelial hyperplasia (FEH) is an uncommon disease characterized by the proliferation on the oral mucosa of multiple papulonodular lesions, which are smooth, soft on palpation and generally asymptomatic. It has been described a predisposition for women and subjects younger than 20 years old.

Although previously described by other authors, the first case report was published by Dr Heck in 1965, and it is therefore also known as Heck's disease. In the same year, Witkop et al reported 11 cases with the same diagnosis among Xavante Indians in Brazil, a Ladino population in El Salvador and Quiche-Mayan Indians in Guatemala. Single cases were subsequently reported in Polynesia, Puerto Rico, in an adult female Caucasian, and in small population groups in Bolivia, Paraguay, Peru, Colombia and Mexico.

The main etiological factor for this disease is the presence of the human papillomavirus (HPV), which belongs to a varied group of DNA viruses from the Papillomaviridae

family. Similar to all viruses in this family, it only establishes productive infections in the stratified epithelium of skin and mucosa of humans and certain animals.

Approximately 200 different types of HPV have been identified, mostly asymptomatic. In 1983, Pfiser et al related the disease to HPV-13 after examining a sample from a Turkish patient. Afterwards, Beaudenon et al confirmed this specific association in 10 patients of various origins and also observed a correlation with HPV-32. In addition, within the past few years, immunohistochemical and in situ hybridization reports have also shown MEH to be closely related to HPV-13 and HPV-32, however, this information remains unclear.

### **12.3. HYPOTESIS**

Focal Epithelial Hyperplasia is related to HPV-13 and HPV-32 and there is a relationship between the location of the lesion and the type of HPV.

### **12.4. OBJECTIVES**

Given the constant immigration and absence of similar studies in a considerable sample, the main objective of this investigation was to identify and typify the presence of HPV 13 and HPV 32 in a series of cases, as well as the relationship between the location of the lesions and the type of HPV. As secondary objectives; demographic, clinical and histopathological findings were described.

## **12.5. MATERIAL AND METHODS**

This was a retrospective study on a series of 47 patients and 76 samples, previously diagnosed with Focal Epithelial Hyperplasia.

The approval of the ethics committee was obtained prior to the start of the study by the San Carlos Clinical Hospital (internal code: 11/226-E), and an informed consent was obtained from all patients.

The sample included all the records of patients with clinical and histopathological diagnosis of Focal Epithelial Hyperplasia from the Department of Medicine and Oral Pathology of the “Universidad Peruana Cayetano Heredia” (Lima-Peru) issued during the period between 1991 and 2010.

The selected cases met the following criteria:

- ✓ Patients with primary diagnosis of FEH.
- ✓ Patients with clinical and histopathological diagnosis of Focal Epithelial Hyperplasia issued by a specialist in Medicine and Oral Pathology.
- ✓ Complete clinical history data including: age, sex, number of lesions, location of lesions.
- ✓ Systemically healthy patients.
- ✓ Paraffin blocks in good condition and with enough material to obtain new samples and perform DNA extraction procedures, for further analysis.

On the other hand, patients on whom was not possible to confirm the histopathological diagnosis of HEF by analyzing the new histological sections, were excluded.

For the collection and recording of data, a group file divided by cases was completed, with the most relevant clinical data from the etiological point of view. All patients were consecutively assigned codes. The data and variables that were recorded were the following: clinical history number, age, gender, date of diagnosis, anatomical location, number of lesions and any additional observation (habits, family data or any information that is considered relevant).

The samples were processed from the paraffin blocks from each patient. The histological sections obtained were stained with hematoxylin-eosin (H.E.) and after the confirmation of the diagnosis by 2 specialists, were analyzed using the PCR technique in the Laboratory of “Cayetano Heredia University” (Lima- Peru).

The statistical analysis of the data was performed with the SPSS Windows 22.0.0.0 software program (IBM, Chicago, Illinois, USA). For all analyzes, 99% (0.01) was used as the confidence level, and the statistical methods used were:  $\chi^2$  for the analysis of the distributions of the variables, contingency tables for the relationship between qualitative variables, Fisher's Exact Test to compare the independence or influence between two qualitative variables and finally, the Tree Procedure in order to segment, stratify, predict and identify interactions of variables in the sample.

## **12.6. RESULTS**

The results showed that 47.2% of sites had HPV 13 and 52.1%, HPV 32. In addition, a relationship was found between HPV type and localization, creating HPV 13 tendencies in the lower lip (80.6% %) and HPV 32 in the tongue and cheek (92.9% and 81.0%, respectively). Regarding the demographic and clinical characteristics of all patients, the majority of subjects were found between the first and second decade of life (77%), were female (66%) and the most common location was the lower lip (43%).

As for the histopathological findings, the increase in the number of cell layers and the hypercellularity of epithelial ridges was a common feature, however, the presence of cellular mitosis in the different strata was very rare. The epithelium was altered and this is manifested in the different types of architecture that were presented, the punctiform and wide type being the most common. The cells presented some very characteristic alterations, which were manifested in mitosoid figures and coilocytic changes. Finally, these histopathological findings were found in 100% of the cases: cellular eosinophilia, presence of intercellular bridges and parakeratinization.

## **12.7. CONCLUSIONS**

It is concluded that all these findings described in a series of patients of a period of 20 years can provide valuable information for the correct diagnosis and treatment of this disease, and that there is a possible relation between the location of the HEF lesions and the type of HPV present.

## **13.- RESUMEN EN ESPAÑOL**

La hiperplasia Epitelial Focal (HEF) se manifiesta como una lesión pápulo nodular en la mucosa oral y se ha asociado frecuentemente con el Virus de Papiloma Humano (VPH) de tipo 13 y 32. Se ha descrito una predisposición por el sexo femenino y en sujetos menores de 20 años. Aunque la mayoría de pacientes han sido en indios americanos y esquimales, esta condición también se ha registrado en diferentes razas y localizaciones geográficas.

Dada la constante inmigración y ausencia de estudios similares en una muestra considerable, el objetivo principal de este trabajo fue identificar y tipificar la presencia del VPH 13 y 32 en una serie de casos, así como la relación que existe entre la localización de las lesiones y el tipo de VPH. Como objetivos secundarios, se describieron las características demográficas, clínicas e histopatológicas.

La muestra incluyó 47 pacientes con diagnóstico histopatológico de HEF, procedentes del departamento de Medicina y Patología Oral de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (Lima-Perú) emitidas durante el periodo comprendido entre los años 1991 y 2010. El procesado de las muestras y la extracción de ADN, se realizó a partir de los bloques de parafina procedentes de cada paciente. Los cortes histológicos obtenidos fueron teñidos con hematoxilina- eosina (H.E.) y se analizaron utilizando la técnica de PCR en el Laboratorio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Los resultados demostraron que el 47,2 % de localizaciones presentó VPH 13 y el 52,1%, VPH 32. Además, se encontró una relación entre el tipo de PVH y la localización, creando tendencias del VPH 13 en el labio inferior (80.6%) y el VPH 32 en la lengua y mejilla (92.9 % y 81.0 % respectivamente). En cuanto a las características demográficas y clínicas de todos los pacientes, la mayor parte de sujetos

se encontraron entre la primera y segunda década de vida (77 %), fueron de género femenino (66 %) y la localización más común fue el labio inferior (43 %).

En cuanto a las características anátomo- patológicas, el aumento de número de capas celulares y la hiper celularidad de crestas epiteliales fue una característica común, sin embargo, la presencia de mitosis celular en los diferentes estratos fue muy rara. El epitelio se encontró alterado y esto se manifiesta en los diferentes tipos de arquitectura que se presentaron, siendo la tipo puntiforme y ancha las más comunes. Las células presentaron algunas alteraciones muy características, que se manifestaron en figuras mitosoides y cambios coilocíticos. Finalmente, algunos hallazgos histopatológicos fueron encontrados en el 100 % de los casos: eosinofilia celular, presencia de puentes intercelulares y paraqueratinización.

Se concluye que todos estos hallazgos descritos en una serie de pacientes de un periodo de 20 años puede aportar información valiosa para el correcto diagnóstico y tratamiento de esta enfermedad, y que existe una posible relación entre la localización de las lesiones de HEF y el tipo de VPH presente.